UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
P. HUBER · R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA
Basel Lausanne Bern Zürich
Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL
SUISSE – SCHWEIZ – SVIZZERA – SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

K. Miescher: Zur Frage der Alternsforschung 417
W. Kuhn: Mögliche Beziehungen der optischen Aktivität zum Problem des Alterns 429

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

J. H. Baxendale and D. Smithies: Radical Yields in X-Irradiated Aqueous Solutions 436
J. Rodesch, Mlle C. Jaudel, B. Chirpaz et P. Mandel: Action d'une dose unique de rayons X, administrée en irradiation totale ou locale, sur les acides nucléiques de la moelle osseuse chez le rat blanc 437
Mary Wheatley and Z. Valenta: The Nature of Brdička's Cancer-Test 438
E. R. M. Kay and J. N. Davidson: Acid-soluble Nucleotide Derivatives in Cell Nuclei Isolated in a Non-aqueous Medium 439
G. Wolff, S. Fallab und H. Erlenmeyer: Über das Cu^{2+}-Bindungsvermögen einiger Aminosäuren und Peptide. Metallionen und biologische Wirkung 440
R. Meier, P. Desaulles und B. Schär: Über die Wirkung von Mischungen eines antigenhaltigen Plasmas mit einem antikörperhaltigen Serum auf die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms 442
V. D'Amelio: Trypsin Sensitivity of Some Proteins of the Sea-Urchin Egg before and after Fertilization. An Electrophoretic Analysis 443
R. E. Billingham, L. Brent, and P. B. Medawar: Tolerance of Red Cell Antigens and Transplantation Immunity in Chickens 444
G. Ortolani: The Presumptive Territory of the Mesoderm in the Ascidian Germ 445
F. W. Kahnt, R. Neher und A. Wettstein: Umwandlung von radioaktivem Cortexon in Aldosteron durch Nebennieren-Enzyme 446
J. C. Rüegg und H. Langemann: Wirkungsverstärkung von Adrenalin und Noradrenalin durch Azetylcholin am isolierten Irisdilatator des Kaninchens 447
U. Köhler: Ein 24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte 448
A. Studer und G. Zbinden: Experimenteller Beitrag zur Frage von Nierenschäden bei Abusus von phenazetinhaltigen Schmerzmitteln 450
R. Wersäll: Responses of the Middle-ear Muscles to Neuromuscular Blocking Agents 451
P. G. Waser: Fehlende ganglionäre (nikotinische) Wirkung des Muscarins 452
J. O. Ottosson: The Effect of Xylocain in Electric Convulsive Treatment 453
L. Vegni and C. Prior: Insulin and its Possible Role in the Artificial Hibernation 455

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: E. A. Braude: The Labile Stereochemistry of Conjugated Systems 457

WILD
HEERBRUGG

Was sich der Praktiker von seinem Mikroskop wünscht!

Zweckmässigkeit: Koaxiale Triebe, Einbaubeleuchtung, Binokulare Beobachtung.

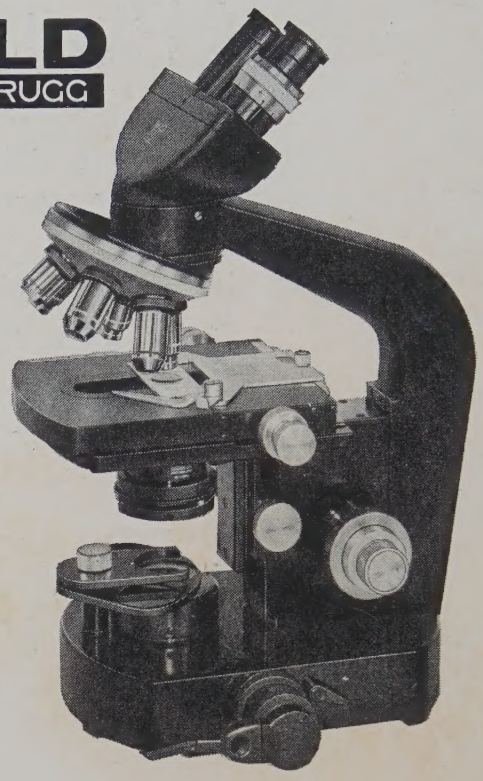
Vielseitigkeit: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisation, Projektion, Blaulichtfluoreszenz usw.

Qualität: Garantie

das findet er realisiert im
neuen Forschungs-Mikroskop Wild M 20

Ausführliche Beschreibung
im Prospekt Mi 604

Wild Heerbrugg AG., Heerbrugg/Schweiz



Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia XI/11

Artia, Prague
Birkhäuser Verlag, Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
Salvis AG., Luzern-Emmenbrücke
Sandoz AG., Basel
Fr. Sauter AG., Basel
Schwitter AG., Basel und Zürich
Trüb, Täuber, Zürich
Wild Heerbrugg AG., Heerbrugg

Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern durch die Post abonniert werden:
Des abonnements pour EXPERIENTIA peuvent être commandés près des bureaux de poste des pays suivants:

Italien	Belgien, Luxemburg	Dänemark	Schweden	Portugal
Deutschland	Holland	Norwegen	Finnland	Marokko

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an 36 francs pour la Suisse; pour l'étranger 46 francs. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 36.–, im Ausland sFr. 46.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, $^1/_2$ Seite Fr. 132.–, $^1/_4$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzero o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 36.– per la Svizzera; all'estero sfr. 46.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription by inland mail is fr. 36.–; other countries sfr. 46.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, $^1/_2$ page fr. 132.–, $^1/_4$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Copyright 1955 by Birkhäuser Verlag, Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15, Telephon (061) 24 98 00; Telegrammadresse: Edita Basel

Printed in Switzerland by Birkhäuser AG., Basel

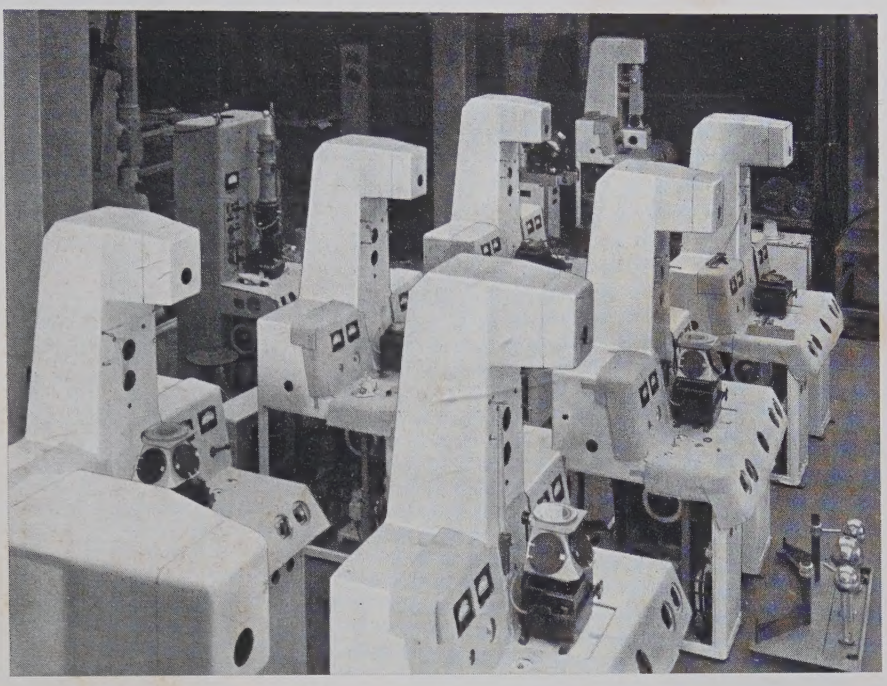
Trüb, Täuber Elektronenmikroskop

Vorteile:

Einfache Bedienung
und grosse Betriebs-
sicherheit

Kalte Kathode von
praktisch unbegrenzter
Lebensdauer

Kurzfristig lieferbar



Montage von
Elektronenmikroskopen
bei Trüb, Täuber

TRÜB, TÄUBER · ZÜRICH

ARTIA

Collection of Czechoslovak Chemical Communications

(Begründet von E. Votoček und J. Heyrovský)

In der Zeitschrift werden ausgewählte Arbeiten aus der tschechoslowakischen Zeitschrift Chemické listy auf dem Gebiet der Chemie und Biochemie in deutscher, englischer oder russischer Übersetzung veröffentlicht. Ausser diesen ungekürzten Originalmitteilungen wird über eine Reihe weiterer, nur in tschechischer Sprache veröffentlichter Arbeiten ausführlich referiert. Ein Jahrgang, bestehend aus 6 Heften, hat einen Umfang von etwa 1600 Seiten. Als Beilage enthält die Zeitschrift einmal jährlich ein vollständiges Verzeichnis aller Veröffentlichungen auf dem Gebiet der Polarographie.

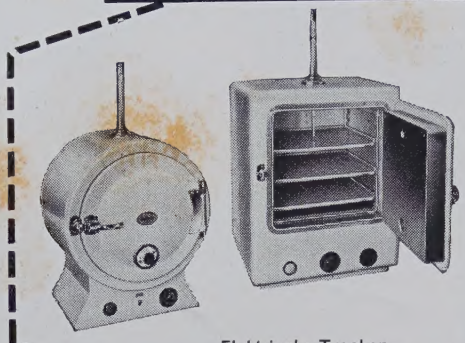
Jährlicher Bezugspreis $ 8,50 oder Gegenwert in anderer Währung. Bestellungen können durch jede Buchhandlung oder bei Artia, 30 Ve Smečkách, Prague (Tschechoslowakei), erfolgen.

Redaktionskomitee

R. Brdička, J. Gašperík, V. Herout, J. Heyrovský, V. Hovorka, B. Keil, J. Koštíř, R. Lukeš, A. Okáč, J. Plíva, M. Protiva, J. Rudinger, J. Sicher, M. Streibl (Redaktor), E. Šorm (Vorsitzender), O. Wichterle, P. Zuman.

*

Elektrische Wärmegeräte
für Laboratorien



Elektrische Trocken-,
Brut- und Sterilisierschränke

Salvis
SALVIS AG. Luzern-Emmenbrücke
Fabrik elektrischer Apparate

BECKMAN

AUTOMATISCHES
QUARZ - SPEKTROPHOTOMETER

MODELL

DK-1

- Automatisch messend und registrierend
- Spektralbereich: **200–3000 mμ**
- Auflösung :
  0,3 mμ im UV, 1 mμ im Sichtbaren, 3 mμ im IR
- Doppelstrahlprinzip kombiniert mit den Vorteilen des Einstrahlverfahrens
- Empfänger : PbS-Zellen modernster Konstruktion. IP28 Photomultiplier
- Wechselstromnetzanschluss. Eingebaute hochwirksame Stabilisation
- Grosse Schreibgeschwindigkeit :
  UV-Bereich : 2,5 Minuten
  Sichtbarer Bereich : 40 Sekunden
  Naher Infrarot-Bereich : 1,5 Minuten
- Schreiber mit Zeitkonstante 1 Sekunde
- **Lineare** Aufzeichnung umschaltbar für **Transmission** und **Extinktion** oder in relativen Energieeinheiten
- Modell DK-1 hat sich auch in der Schweiz glänzend bewährt
- Flammenzusatz lieferbar, Reflexions-Messzusatz in Vorbereitung

Zuverlässige Beratung und Service
durch eigenes Fachpersonal

GANZ & CO.
BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73
Zürich

Bitte verlangen Sie das BECKMAN-Bulletin 14/E

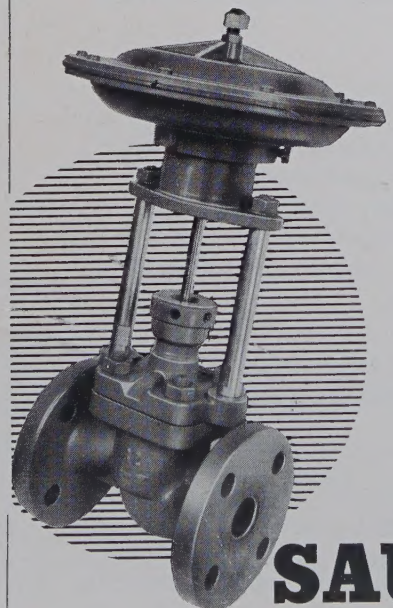
Pneumatische Regelungen für

Heizung

Lüftung

Klima-

anlagen



SAUTER

Fr. Sauter AG., Fabrik elektr. Apparate, Basel

EXPERIENTIA

Vol. XI - Fasc. 11 Pag. 417–464 15. XI. 1955

Redaktionelle Vorbemerkung. Die nachstehenden beiden Übersichtsartikel zum Alternsvorgang als biologisches und physiko-chemisches Problem begrüssen wir besonders: sie haben Pioniercharakter und wollen zu systematischerer und methodischerer Alternsforschung (Gerontologie) anregen.

Zur Frage der Alternsforschung [1]

Von K. Miescher

1. Altern, ein soziales Problem. Die zunehmende Überalterung der Bevölkerung der westlichen Welt tritt mit Recht immer mehr in den Vordergrund des allgemeinen Interesses. In der Schweiz stieg der Anteil der 50- und Mehrjährigen von 1860 bis 1920 nur von 17,7 auf 18,6% (Zuwachs +5%), erreichte aber 1950 bereits 25,6% (+45%); die entsprechenden Zahlen für 65- und Mehrjährige lauten 5,1, ... 5,8 (+14%) und 9,6% (+88%) und zeigen damit eine noch erheblichere Zunahme (siehe Abb. 1)[2]. Ein weiteres Ansteigen ist zu

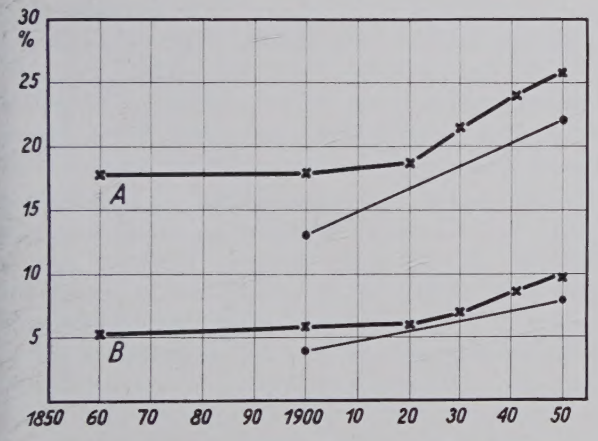


Abb. 1. Prozentanteile der über 50jährigen (*A*) bzw. über 65jährigen (*B*) der schweizerischen Bevölkerung (—x—). Vergleichswerte USA. (—·—).

erwarten. Mit verursacht wird es durch die seit 1900 sinkende Geburtenzahl. Bessere Lebensbedingungen, eine fortschrittlichere Hygiene und die rasche Entwicklung von Medizin und Chirurgie kommen vor allem den jüngeren Altersstufen zu gut, wodurch eine grössere Anzahl die 50-Jahresgrenze überschreitet. In der Tat soll sich in den USA die Lebenserwartung von etwa 21 Jahren der über 50jährigen seit 1850 kaum geändert haben (Abb. 2, gestrichelt). In der Schweiz zeigt dagegen zwischen den Perioden 1876/1880 und 1939/1944 diejenige der Männer einen Anstieg von 18,1 auf 22,1 Jahre (+ 22,1 %) und die der Frauen von 19,1 auf 24,6 Jahre (+ 28,8 %)[1]. Neuere Zahlen liegen noch nicht vor.

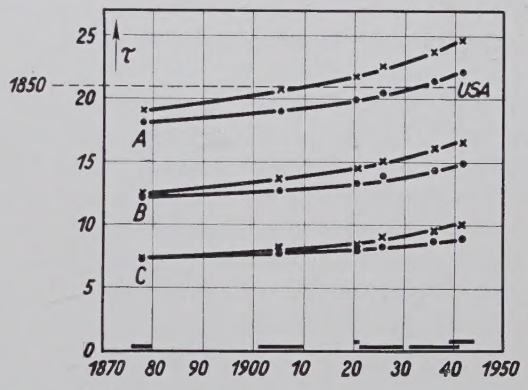


Abb. 2. Lebenserwartung τ in Jahren von 50- (*A*), 60- (*B*) und 70-jährigen (*C*). in der Schweiz. Frauen (—x—) und Männer (—●—) Vergleichswert USA vom Jahre 1850. ▬▬ Zählungsperiode.

Die Überalterung bedeutet besonders dann ein ernstes soziales Problem, wenn der alte Mensch infolge Hinfälligkeit oder Bedürftigkeit den jüngeren Jahrgängen zur Last fällt[2]. Es kann deshalb nicht das Ziel sein, bloss die Zahl der Lebensjahre zu vermehren, ist doch, wie ich schon kürzlich darauf hinwies[3], ein verlängertes Leben nur dann erstrebenswert, wenn die Funktionstüchtigkeit erhalten bleibt und damit der alte Mensch in die Lage versetzt wird, zum mindesten für sich selbst zu sorgen[4]. Erschöpften sich bisher die Bestrebungen im wesentlichen darin, durch Renten, Altersheime und dergleichen sowie entsprechende medizinische Betreuung die Existenz der Alten erträglicher zu gestalten oder sicherzustellen, so muss es das Ziel der modernen Alternsforschung sein, Möglichkeiten zu suchen, auf aktiverem Wege die jedermann

[1] Einführendes Referat anlässlich des Symposiums der Schweizerischen Gesellschaft für Gerontologie vom 11. Dezember 1954 in Basel (Vorsitz Prof. Verzár). Referate der Vorträge siehe Schweiz. med. Wschr. *85*, 686 (1955).

[2] Ähnliche Zahlen gelten auch für USA. Von 1900 bis 1950 stieg dort die Zahl der 50- und Mehrjährigen von 13 auf 22% und der 65- und Mehrjährigen von 4 auf 8%. Siehe zum Beispiel: N. W. Shock, *Trends in Gerontology*, Stanford University Press, California 1951, S. 4; ferner W. H. Sebrell jr., National Institute of Health, Bethesda, Md.; Chem. and Engin. News *31*, 4670 (1953).

[1] Alle Angaben über die Verhältnisse in der Schweiz verdanke ich Herrn Prof. E. Zwinggi.

[2] Siehe hiezu A. L. Vischer, Schweiz. med. Wschr. *84*, 1305 (1954).

[3] K. Miescher, *Heilmittel im Fortgang der Wissenschaft*, Angew. Chemie *65*, 285 (1953).

[4] Vgl. auch R. Rössle, Exper. *4*, 295 (1948).

drohenden Alterserscheinungen schon rechtzeitig zu mildern oder gar zu verhindern.

Die Forschung beginnt erst, dieses ehrgeizigere Ziel in seiner vollen Bedeutung zu erkennen. Vom wachsenden Interesse für Alternsfragen zeugt die Gründung zahlreicher gerontologischer Gesellschaften[1], sowie die Abhaltung nationaler und internationaler gerontologischer Kongresse[2], insbesondere seit Ende des letzten Weltkrieges. Wertvolles Material liegt schon vor, aber im Gesamten fliessen die Ergebnisse noch spärlich.

2. *Experimentelle Phase der Alternsforschung.* Raschere Fortschritte dürften in der Alternsforschung, wie überall auf naturwissenschaftlichem Gebiet, erst erwartet werden, wenn in viel grösserem Ausmasse Beobachtung und Experiment in den Vordergrund treten. Es besteht kein Zweifel, dass die Öffentlichkeit die Mittel hiezu willig zur Verfügung stellen wird, ist doch ein jeder, gleich welchen Alters, am Ergebnis interessiert. Die erforderlichen Aufwendungen sind allerdings nicht unbedeutend, da es sich im allgemeinen um Versuchsreihen von beträchtlicher Ausdehnung handelt[3].

Wie hat aber die experimentelle Forschung vorzugehen? Die Antwort kann nur lauten: durch exakte Ermittlung jener Vorgänge und Änderungen an Mensch und Tier, die durch das fortschreitende Alter bedingt sind, und, gestützt darauf, durch systematische Versuche, sie zu beeinflussen. Zunächst handelt es sich um reine Grundlagenforschung. Diese wird zur Auffindung mehr oder weniger einfacher Testmethoden führen, die ihrerseits praktische Ergebnisse erwarten lassen. Von vornherein ist aber ein Missverständnis zu beheben. Alternsforschung kann sich nicht nur mit alten Menschen oder Tieren abgeben. Insofern erscheint die jetzt übliche Bezeichnung Gerontologie (Greisenlehre) oder Geriatrie recht unglücklich gewählt. Vielmehr muss die Alternsforschung die ganze Spanne von der Geburt bis zum Tode erfassen. Nicht mit Unrecht sagt SHOCK[4] "Ageing begins with conception and ends only with death."

3. *Leben als dynamisches oder Fliessgleichgewicht.* Vorerst stellt sich die Frage: was ist Leben überhaupt; worin unterscheidet sich der lebendige Organismus vom leblosen? Bereits 1860 hat der geniale englische Forscher MICHAEL FARADAY in seinen "Lectures on the Chemical History of a Candle", die er vor einem Auditorium von vorwiegend Knaben und Mädchen hielt und die dank ihrer Lebendigkeit noch heute mit Gewinn zu lesen sind, das menschliche Leben mit einer Kerzenflamme verglichen[1]. Um die Flamme bzw. das Leben aufrecht zu erhalten, bedarf es einerseits der ständigen Zufuhr von «Brennmaterial», anderseits der Abfuhr der Verbrennungsprodukte. Das Bild ist um die Jahrhundertwende von WILHELM OSTWALD, dem Begründer der physikalischen Chemie, aufgegriffen worden. Er zeigte[2], dass es sich dabei, wie auch beim Wasserstrahl, nicht um geschlossene, sondern um offene Systeme handelt, die sich in dynamischem oder fliessendem Gleichgewicht befinden. Ausgehend von dieser Vorstellung definierte der bekannte theoretische Biologe v. BERTALANFFY den lebenden Organismus als «einen Stufenbau offener Systeme, der sich auf Grund seiner Systembedingungen im Wechsel der Bestandteile erhält»[3].

Im Laufe des Lebens erfährt die dynamische Gleichgewichtslage Verschiebungen nach oben und nach unten; so entspricht die Jugend einem Evolutionsprozess, der Zustand des Erwachsenen einer oberen Stabilitätslage und das Alter einem Regressionsvorgang. Krankheit und Tod stellen vorübergehende oder endgültige Störungen des Fliessgleichgewichts dar.

4. *Das Energieprodukt.* Die Aufrechterhaltung des Fliessgleichgewichts, das in Wirklichkeit ein Ungleichgewicht darstellt, erfordert einen ständigen Zufluss von Energie. Um sich eine klarere Vorstellung der Energetik biologischer Vorgänge zu bilden, sei kurz auf den Energiebegriff selbst eingegangen. Wie zunächst RANKINE und später MACH sowie MAXWELL gezeigt haben[4], lässt sich ganz allgemein die Energie (E) als Produkt zweier Faktoren darstellen, die mit OSTWALD als Extensitätsfaktor (M) und Intensitätsfaktor (I) bezeichnet seien (siehe Tabelle I).

$$M \cdot I = E \qquad (1)$$

Extensitätsfaktoren (auch Mengen- oder Kapazitätsfaktoren) sind stets proportional der mit der betrach-

[1] Im Frühling 1954 erfolgte auch die Gründung der Schweizerischen Gesellschaft für Gerontologie (Präsident: Prof. A. v. ALBERTINI, Zürich).

[2] Der 3. Kongress der Internationalen Gesellschaft für Gerontologie fand am 19.–23. Juli 1954 in London statt. Ihm voraus (13.–15. Juli) ging ein «Colloquium on Ageing. General Aspects» im kleineren Rahmen der CIBA Foundation in London.

[3] Die CIBA Foundation in London sucht speziell die *experimentelle* Alternsforschung durch Veranstaltung von Colloquien, Symposien, jährliche Verteilung von «awards» für die besten Arbeiten und dergleichen zu fördern. Die ersten sieben Preise wurden im Juni 1955 verteilt. Neuerdings beabsichtigt auch das Public Health Service in USA die Alternsforschung an Universitäten und in klinischen Laboratorien zu entwickeln.

[4] N. W. SHOCK, *Trends in Gerontology*, Stanford University Press, California 1951, S. 1.

[1] M. FARADAY, *Naturgeschichte einer Kerze*, Reclams Universal-Bibliothek Nr. 6019, 6020.

[2] W. OSTWALD, *Vorlesungen über Naturphilosophie* (Verlag Veit & Levy, Leipzig 1902), S. 271, 312 u. ff.; *Die Pyramide der Wissenschaften* in «Wege der Technik» (1929), S. 124 u. ff.; Mitt. Verb. Freunde Techn. Hochs. Wien, Heft 3/4, S. 14 (1931).

[3] L. v. BERTALANFFY, *Das biologische Weltbild* (A. Francke AG., Bern 1949), Bd. I, S. 124. Wie W. TROLL, *Das Virusproblem in ontologischer Sicht* (Wiesbaden 1951), S. 39, darauf hinweist, prägte bereits GOETHE in Faust II den Begriff der «Wechseldauer» und 1850 definierte A. SCHOPENHAUER das Leben als den «Zustand eines Körpers, darin er, unter beständigem Wechsel der Materie, seine ihm wesentliche (substantielle) Form allezeit behält». Der Vergleich mit dem Wasserfall wird erwähnt, aber abgelehnt, weil hier die Form nicht wesentlich, sondern zufällig ist (*Parerga und Paralipomena*, 2. Teil, Kap. VI, Par. 93).

[4] Zitiert nach W. OSTWALD, *Die Energie*, Sammlung «Wissen und Können», 2. Aufl. (Leipzig 1912). Siehe auch C. OPPENHEIMER, *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere*, 2. Aufl. 2, 222 (1925).

Tabelle I. Das Energieprodukt (M · I = E)

Energieart	Extensitätsfaktor (Mengenfaktor)	Intensitätsfaktor (Potential, Spannung, Niveau)	Energiebetrag
Gravitationsenergie	Gewicht	Höhe	G · H
Kinetische Energie	Masse	Geschwindigkeit	$\frac{1}{2}m \cdot v^2$
Volumenenergie, Gase	Volumen	Druck	V · p
Volumenenergie, Lösungen	Volumen	osmotischer Druck	V · π
Oberflächenenergie	Oberfläche	Oberflächenspannung	O · σ
Wärmeenergie	Wärmekapazität	Temperaturdifferenz	K · t
Elektrische Energie	Ladung	Potential	e · U
Strahlungsenergie	Quantenanzahl	Frequenz	nh · ν
Chemische Energie	Menge	Affinität	M · A
Massenenergie	Masse	Lichtgeschwindigkeit	m · c^2

teten Energie verknüpften «Materiemenge». Intensitätsfaktoren (Potentiale, Spannungen) bleiben bei blossen Mengenänderungen konstant. Arbeit kann stets nur geleistet werden, wenn Intensitätsunterschiede (Potential- oder Spannungsdifferenzen) bestehen und damit Materie – im weitesten Sinn – von einem Zustand höherer in einen Zustand niedrigerer Energie übergehen kann[1].

Der tierische Organismus deckt seinen Bedarf zunächst stets in Form *chemischer Energie*. Die Art ihres Intensitätsfaktors *A* (siehe Tabelle I) ergibt sich nach (1) durch Division des Energieproduktes *E* durch den Mengenfaktor *M*, welcher sinngemäss durch die an der Reaktion beteiligten Substanzmengen gemessen wird. Folglich dient hier als Mass der «Affinität» *A* eine auf das Gewicht bezogene Energie, die gemäss thermodynamischer Betrachtungsweise der bei reversibler Reaktionsführung maximal leistbaren, mechanischen Arbeit entspricht. Sie ist bei isothermen Vorgängen identisch mit der *freien Energie*, durch die Richtung und Gleichgewichtslage bestimmt sind.

Intensitäts- und Extensitätsfaktor spiegeln die alten Vorstellungen von Kraft und Stoff wieder. Sie fanden Mitte des letzten Jahrhunderts im Energiebegriff ihre Synthese, ohne aber dadurch ihre Gegensätzlichkeit einzubüssen.

5. Biopotentiale und Biotonus. Das Leben ist an die Möglichkeit gebunden, jederzeit ausreichende Mengen Energie einsetzen zu können. Diese entnimmt der Organismus der Nahrung, die ja nichts anderes als gespeicherte (chemische) Energie darstellt. Der Intensitätsfaktor der Nahrung, ihr Potential, wird durch die Affinität der Nahrungsstoffe zum Sauerstoff bestimmt. Die zur Verfügung stehende freie Energie biologischer Oxydationen ist immer von ähnlicher Grösse wie die Verbrennungswärme der Ausgangsstoffe, eine Feststellung, die sehr allgemein für vollständig verlaufende Reaktionen bei niedriger Temperatur gilt und zu dem bekannten Vergleich der Nahrungsstoffe auf Grund ihrer Kalorienwerte führt. Man darf sich dadurch jedoch nicht über die grundsätzliche Ungleichheit von Verbrennungswärme und freier Energie täuschen lassen[1].

Stellt die Nahrung ein Energiereservoir gegebener Intensitätshöhe dar, so benützt der Organismus die bei ihrer Umwandlung gewinnbare Energie in verschiedenen Formen zur Aufrechterhaltung einer ganzen Reihe für das Leben bedeutsamer *Biopotentiale*, wovon die wichtigsten in Tabelle II zusammengestellt sind.

Diese Biopotentiale können nicht beliebig gesteigert oder vermindert werden, sondern sind meist an enge Grenzen gebunden. Wesentlich ist die elastische Anpassung an die ständig wechselnden Beanspruchungen innerer und äusserer Art, die stete Einsatzbereitschaft, um allen Erfordernissen des Augenblicks und selbst Höchstbeanspruchungen genügen zu können. Jede stärkere Änderung der Biopotentiale kann die Existenz des Organismus gefährden und führt schliesslich unwiderbringlich zum Tod.

Tabelle II. Biopotentiale.

Körpertemperatur
Blutdruck
Osmotischer Druck
Quellungsdruck
Elektrische Potentiale (zum Beispiel an Membranen)
Elastische Spannung
Optische Asymmetrie[2]

Den ganzen Erscheinungskomplex, der mit der Aufrechterhaltung der Biopotentiale und der Art der elastischen Einsatzbereitschaft aller Funktionen zusammenhängt, können wir als *Biotonus* des Organismus bezeichnen. Die Geschwindigkeit des Einsatzes ist an das Vorhandensein genügender Reserven (Glykogen!), an die Funktionstüchtigkeit des Kreislaufes sowie des

[1] Von Interesse erscheint, dass der Extensitätsfaktor der Strahlungsenergie eine Konstante *h* aufweist, während bei der Massenenergie der Intensitätsfaktor konstant ist. Die Massenenergie kennt formal nur ein einziges Potential, die Lichtgeschwindigkeit.

[1] Vgl. C. OPPENHEIMER, *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere*, 2. Aufl. *2*, 222 (1925).

[2] Schon wegen der Mischungsentropie tritt im Minimum ein Energieunterschied von 400 cal/Mol zwischen getrennten Antipoden und racemischem Gemisch bei konstant gehaltenem Gesamtvolumen auf. Bei echten Racematen kommt dann noch die Assoziationsenergie und im festen Zustand der Packungseffekt hinzu, die zusammen einige Tausend cal/Mol erreichen können. So beträgt der Unterschied in der Gesamtenergie zwischen wasserfreier d-Weinsäure und d,l-Weinsäure 2100 cal/Mol.

Atmungs- und Verdauungsapparates gebunden. Bessere oder schlechtere Durchblutung steht mit der Höhe des Blutdrucks in Verbindung. Hypotonie führt zu rascher Erschöpfung, Hypertonie zu Schädigungen des Systems.

Entscheidende Bedeutung kommt dem Zelltonus zu, indem die Zellwandung die Grenzscheide einer Reihe wichtiger Biopotentiale bildet, wie der Glukosekonzentration, der Na- und K-Ionenkonzentration, des Elektropotentials usw. Beanspruchung lässt das Zellpotential absinken, vollständiger Potentialausgleich würde den Zelltod bedeuten. So ist zum Betrieb der sogenannten «Natrium-Kaliumpumpe» ein ständiger Energiestrom erforderlich.

Bei der glatten Muskulatur, wie der quergestreiften des Herzens, wird die erforderliche mittlere Tonuslage durch das Zusammenspiel antagonistisch wirkender Nervenreize, von Vagus und Sympathicus, erreicht. Ebenso empfängt die übrige quergestreifte Muskulatur neben willkürlichen und reflektorischen auch tonische Erregungen, die von einem eigenen Tonuszentrum im *nucleus ruber* des Hirnstamms gesteuert werden. Ganz allgemein passt sich die Tonuslage an besondere Zustände und Bedingungen, wie Wachsein und Schlaf, Kälte und Wärme, an.

Worin besteht nun der Unterschied zwischen Jugend und Alter? Sicherlich ist das Wohlbefinden des Individuums an eine rasche Einsatzbereitschaft seiner Energiereserven, an eine günstige Tonuslage gebunden. Die raschere Erschöpfbarkeit im Alter, trotz gleichbleibendem Nahrungsangebot, ist wahrscheinlich an eine zunehmende Verminderung des aktiven Zellmaterials, vielleicht auch des Angebotes an Biokatalysatoren gebunden, deren Eingreifen ja erst die Widerstände überwindet, die dem Ausgleich des chemischen Potentials zwischen den Speicherstoffen des Organismus und dem Sauerstoff der zugeführten Luft entgegenstehen. Jedenfalls sinkt im Alter die je Zeiteinheit verfügbare Energie, der Biotonus lässt nach, die Anpassungsfähigkeit nimmt ab.

6. Der Ruheumsatz. Die zur Aufrechterhaltung des Fliessgleichgewichtes erforderliche Energie wird durch den Ruhe- oder Grundumsatz gemessen. Der Grundumsatz ändert sich über das ganze Tierreich nicht etwa linear mit dem Körpergewicht, sondern zeigt einen paraboloiden Verlauf gemäss der Gleichung:

$$Q = Q_1 G^n \text{ oder } n = \frac{\log Q - \log Q_1}{\log G}, \qquad (2)$$

worin Q den totalen Grundumsatz in Kalorien, G das Gewicht in Kilogramm, Q_1 (Q für $G = 1$) und n Konstanten bedeuten[1]. Abbildung 3 zeigt das Ergebnis für eine Reihe der verschiedenartigsten Warmblüter[2]. Bei bilogarithmischer Darstellung liegen die Werte nahe einer Geraden. Die Konstante n beträgt etwa 0,75.

[1] Siehe hiezu auch L. v. BERTALANFFY, *Theoretische Biologie*, 2. Aufl. (A. Francke-Verlag, Bern)2, 240 (1951).

[2] F. G. BENEDICT, *Vital Energetics* (Washington 1938), S. 171.

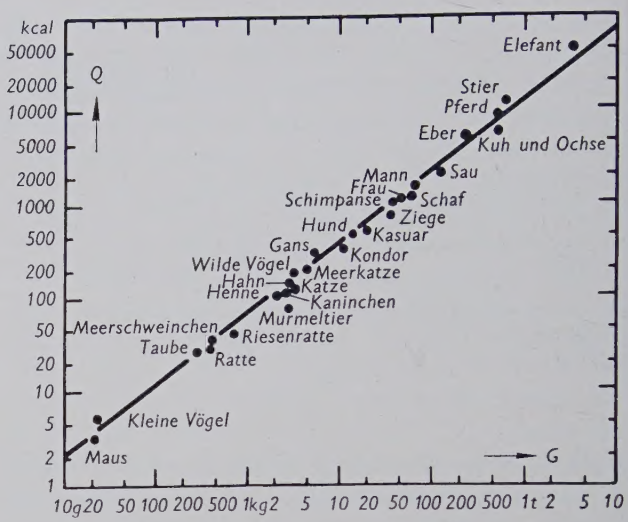


Abb. 3. Mittlere totale Wärmeproduktion Q (kcal) als Funktion des mittleren Gewichtes G (kg) verschiedenster Tierarten in bilogarithmischer Darstellung: $Q = Q_1 \cdot G^n$; $k = 2{,}5$; $n = 0{,}75$; $f_{2G} = 1{,}68$.

Anschaulicher ist die Angabe eines Faktors f, der angibt, um wieviel sich die eine Variable (zum Beispiel Q) vervielfacht, wenn man die andere Variable (G) um das $k$fache vermehrt, zum Beispiel verdoppelt[1]. Es gilt:

$$f_{kG} = k^n \qquad (3)$$

und im Falle der Verdoppelung:

$$f_{2G} = 2^n \text{ oder } \log f_{2G} = 0{,}301\, n. \qquad (4)$$

Im vorliegenden Fall nimmt bei Verdoppelung des Tiergewichts der Grundumsatz jeweils bloss um das $f_{2G} = 1{,}68$fache zu. Geht man vom kleinsten zum grössten Tier über, so sinkt pro Kilogramm und Tag der Grundumsatz um das 13fache von 160 kcal (Maus) auf 12 kcal (Elephant) ab.

Die Gültigkeit der bilogarithmischen Beziehung (2), die unter dem Namen Allometriefunktion (HUXLEY) auch bei allen Wachstumserscheinungen eine bedeutsame Rolle spielt[2], ist offensichtlich eine wichtige Voraussetzung für die gleichzeitige Existenz grosser und kleiner Warmblüter und weist zugleich auf die begrenzenden Möglichkeiten hin[3]. Eine ähnliche bilogarithmische Beziehung scheint übrigens auch für Kaltblüter angenähert zu gelten, doch ist die Höhe des Grundumsatzes um das 3- bis 6fache herabgesetzt[4].

[1] Siehe zum Beispiel K. MIESCHER, Helv. med. Acta, Suppl. VI, Pars phys. et pharm. (Beilage zu Bd. 7, 1940/41), S. 1. Der Verdoppelungsfaktor ist dort mit D bezeichnet.

[2] Siehe hiezu L. v. BERTALANFFY, *Theoretische Biologie*, 2, 312 (1951).

[3] Bei sehr kleinem Gewicht würde die vitale Substanz infolge zu starker Erhitzung zerstört; bei sehr grossem Gewicht könnte wegen der beschränkten Wärmeabfuhr je Kilogramm Körpergewicht zu wenig freie Energie zur Aufrechterhaltung der Biopotentiale erzeugt werden.

[4] Siehe zum Beispiel den Vergleich gleich schwerer Kalt- und Warmblüter durch F. BOURLIÈRE in N. W. SHOCK, *Problems of Ageing*, 15th Conference, sponsored by the Josian Macy jr. Foundation, New York, 1953, S. 145.

Tabelle III

Tierart	Jugendzeit Jahre	Mittlere Lebensdauer Jahre	Mittleres Gewicht des erwachsenen Tieres kg	Totalenergie in kcal je kg-Körpergewicht
Pferd	5	35	450	163,900
Kuh	4	30	450	141,090
Hund	2	11	22	163,900
Katze	1,5	9,5	3	223,800
Meerschweinchen	0,6	6,7	0,6	265,500
Mittel:				191,600
Mensch	20	80	60	725,770

Da zwischen Oberfläche und Volumen eines Körpers ebenfalls eine allometrische Beziehung besteht in dem Sinne, dass bei Verdoppelung des Volumens unter Erhaltung der Form die Oberfläche immer um das 1,59-fache ($n = {}^2/_3$) wächst, wobei sich nur die Konstante G_1 in Abhängigkeit von der Form ändert, so nahm man schon frühzeitig an, dass der Grundumsatz eher von einer Oberfläche als vom Gewicht abhängt[1]. In der Tat muss die gebildete Wärme, sei es mittels Strahlung, Konvektion oder Verdunstung durch innere Oberflächen (zum Beispiel Lunge) oder äussere abgeführt werden. Man pflegt daher den Grundumsatz schematisch pro m² Körperoberfläche auszudrücken.

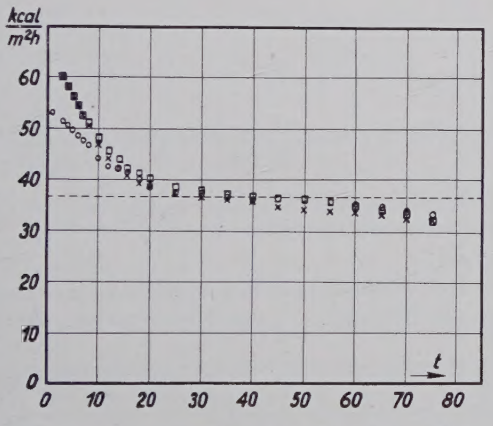


Abb. 4. Grundumsatz des Mannes in kcal je m² Oberfläche und je Stunde nach □ BOOTHBY (1952), ○ FLEISCH (1951) sowie × ROBERTSON und REID (1952). t = Alter in Jahren.

Aber auch der auf die Körperoberfläche bezogene Grundumsatz ist keineswegs konstant, sondern, wie aus Abbildung 4 am Beispiel des Mannes zu ersehen ist, vom Lebensalter in bedeutsamer Weise abhängig[2]. Beim Kleinkind erreicht er die höchsten Werte (53–60 kcal/m²) und nimmt während der Wachstumsphase rasch ab; die Kurve verflacht sich nach dem Abschluss des Wachstums (etwa 37 kcal/m²), beginnt aber bereits um das 40. Lebensjahr erneut abzusinken und fällt bis zum 75. Jahr nochmals um etwa 10%.

Der Wendepunkt im Reifealter zwischen 30 und 40 Jahren und der Abfall in der Regressionsphase sind mit ein Ausdruck für die verminderte Leistungsfähigkeit des alternden Organismus.

7. Rubners Hypothese. Bereits anfangs dieses Jahrhunderts berechnete RUBNER[1] rein überschlagsmässig für einige Säuger die gesamte Energie, die ein Individuum nach beendeter Jugendzeit bis zu seinem Tode pro kg Körpergewicht bei Erhaltungsdiät verbrauchen würde (Tabelle III).

Die Energiebeträge der untersuchten 5 Tierarten erreichen im Mittel 191,600 kcal und kommen sich auffallend nahe. Einzig der Mensch scheint eine sehr viel höhere Energiemenge je Kilogramm umsetzen zu können. RUBNER glaubte auf «die Einheit eines grossen Gesetzes» gestossen zu sein, wonach den Tieren je Kilogramm Lebendgewicht während ihrer Lebenszeit annähernd die gleiche Energiemenge zur Verfügung steht.

Mit RUBNERS Hypothese steht im Einklang, dass gewisse Kaltblüter in kalter Umgebung länger leben als in warmer[2]. Neuerdings konnte MCCAY[3] die Lebensspanne von Ratten verdoppeln, indem er durch geringstmögliches Nahrungsangebot ihren «Jugendzustand» bis zu 1100 Tagen ausdehnte, damit ihre vitale Leistung auf ein Minimum beschränkte und die Tiere erst dann durch kräftigere Nahrung zur Entwicklung brachte. So behandelte Ratten schienen gegen Krankheiten widerstandsfähiger zu sein. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von anderer Seite gemacht.

Der Vergleich zwischen relativem Energieverbrauch und Lebensdauer verschiedener Tierarten, insbeson-

[1] Siehe zum Beispiel: G. LEHMANN in C. OPPENHEIMER, Hdb. Biochem. Erg.-werk 2, 886 (1934). – F. G. BENEDICT, *Vital Energetics* (Washington 1938), S. 175. – A. FLEISCH, Helv. med. Acta *18*, 23 (1951). Wie wir gesehen haben, beträgt die Konstante n in Wirklichkeit nicht ${}^2/_3$ sondern eher ${}^3/_4$.

[2] E. C. ALBRITTON, Standard Values in Nutrition and Metabolism W. B. Saunders, Comp., Philadelphia und London 1954), S. 242. Die Werte für die Frau sind, mit Ausnahme des Kleinkindes, durchwegs kleiner.

[1] Siehe zum Beispiel: MAX RUBNER, *Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung* (Verlag R. Oldenburg, München und Berlin 1908).

[2] Siehe hiezu: F. BOURLIÈRE, Schweiz. med. Wschr. *84*, 1310, (1954), N. W. SHOCK, *Problems of Ageing*, 15th Conference, sponsored by the Josiah Macy jr. Foundation, New York 1953, S. 126, – L. BINET und F. BOURLIÈRE, *Précis de Gérontologie* (Masson & Cie., Paris 1955), Kap. I. Dieses im Herbst 1955 erschienene Buch verdient besonderes Interesse.

[3] CLIVE M. MCCAY in *Cowdry's Problems of Ageing*, herausg. von A. J. Lansing (TheWilliams & Wilkins Company, Baltimore, 3. Aufl.), S. 139 (1952).

dere zwischen grossen und kleinen Säugetieren, ist in dieser Hinsicht besonders lehrreich. Wie Abbildung 3 zeigte, benötigen kleinere Tiere mit ihrer relativ zu ihrem Volumen bzw. Gewicht sehr viel grösseren Oberfläche einen wesentlich höheren Energiebetrag je Kilogramm Körpergewicht als grössere Tiere. Entsprechend leben grössere Säugetiere bedeutend länger als kleinere.

Fledermäuse weisen nach BOURLIÈRE eine sehr unvollständige Wärmeregulierung selbst ausserhalb des Winterschlafes auf; so sinkt ihr Stoffwechsel während der Schlafenszeit am Tag nahezu auf den für den Winter charakteristischen Betrag ab und ihre Körpertemperatur passt sich der Umgebungstemperatur an. Da die Fledermäuse in Zeiten verlangsamten Lebensprozesses eine sehr viel geringere Menge an Energie verbrauchen, ist es nicht verwunderlich, dass sie relativ länger als Säuger ähnlicher Grösse, aber konstanter Wärmeregulierung leben[1].

Wenn auch manche Tatsachen die Hypothese von RUBNER zu stützen scheinen[2], sind doch noch viel eingehendere Untersuchungen erforderlich. Gerade für die Alternsforschung würden sich im Falle der Bestätigung interessante Folgerungen ergeben. So wäre es nicht gleichgültig für die zu erreichende Lebensdauer, aber sicher auch für den Alternszustand eines Individuums, wie rasch er die ihm zustehende Energie verausgabt, wobei im Einzelfall sicher auch weitgehend die Konstitution mitbestimmend ist.

Keineswegs ist dies aber so zu verstehen, dass der Energieverbrauch möglichst eingeschränkt werden soll. Im Gegenteil scheint eine lebhafte Betätigung in physischer und psychischer Hinsicht für die Gesundheit nur förderlich zu sein. Schädlich kann sich nur eine längere Überbeanspruchung der energetischen Reserven auswirken.

8. Zweierlei Alternsvorgänge. Treten wir näher auf die Alternsvorgänge ein, so stellt sich die Frage, ob sie einheitlicher Natur sind. In der Tat gibt es vielerlei Arten, die sich aber auf zwei grundsätzlich verschiedene Gruppen zurückführen lassen.

Die eine Gruppe der Alternsvorgänge, wir nennen sie die *A-Vorgänge*, äussert sich in einem kontinuierlich ansteigenden oder abfallenden Verlauf von der Geburt (oder selbst früher) bis zum Tode. So beobachten wir schon rein äusserlich beim Menschen wie beim Tier eine auffällige Änderung des Turgors der Haut. Beim Kind ist sie elastisch, straff und weich. Im Alter wird sie dagegen trocken und pergamentartig. Ähnliches sehen wir auch in der Pflanzenwelt etwa beim Vergleich junger und alter Laubblätter. Die Änderung hängt zweifellos mit dem Kolloidzustand zusammen und entspricht zum Teil einem zunehmenden Wasserverlust. Der Unterschied zwischen frischem und altem Brot bildet eine eindrückliche Parallele.

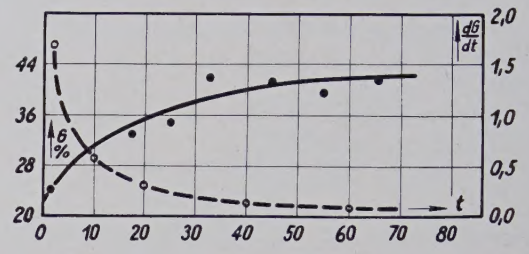


Abb. 5*a*. Ausgezogene Kurve: Trockenrückstand G (in Prozenten) menschlicher Rippenknorpel als Funktion des Alters t in Jahren. $G = G_1 \cdot t^n$; $G_1 = 23{,}5$; $n = 0{,}165$; $f_{1,1G} = 1{,}8$.
Gestrichelte Kurve: Zunahme des Trockenrückstandes je Zeiteinheit dG/dt als Funktion des Alters t in Jahren. $dG/dt = n \cdot G_1 \cdot t^{n-1}$.

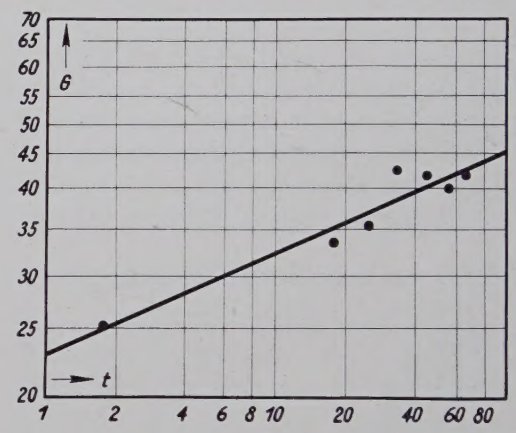


Abb. 5*b*. Trockenrückstand G menschlicher Rippenknorpel als Funktion des Alters t in bilogarithmischer Darstellung.

BÜRGER[1] untersuchte *bradytrophe Gewebe*, worunter er Knorpel, Hornhaut, Linse, Trommelfell, Zwischen-

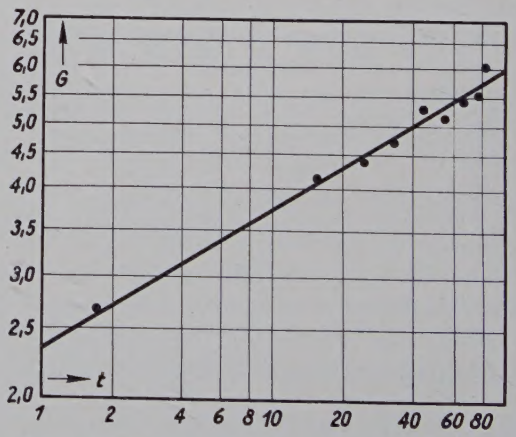


Abb. 6. Stickstoffgehalt G (in Prozenten) des menschlichen Rippenknorpels in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren.
$G = G_1 \cdot t^n$; $G_1 = 2{,}33$; $n = 0{,}197$; $f_{1,1G} = 1{,}63$.

[1] F. BOURLIÈRE, Schweiz. med. Wschr. *84*, 1310 (1954). – Siehe auch M. EISENTRAUT, Rev. Suisse de Zool. *60*, 411 (1953). Zustände nach Art des Winterschlafes sind interessante Beispiele für die Folgen eines teilweise herabgesetzten Biotonus.

[2] So könnte die kürzere durchschnittliche Lebenserwartung des Mannes gegenüber der Frau auf seinen höheren Grundumsatz zurückgeführt werden. Er verbraucht die ihm zustehende Energie rascher.

[1] M. BÜRGER, *Altern und Krankheit*, 2. Aufl. (VEB G. Thieme, Leipzig 1954), S. 51. Das Buch von BÜRGER ist eine Fundgrube wertvollster Beobachtungen über Alternsprobleme.

wirbelscheibe, Gefässwandungen (speziell der Aorta) und Narbengewebe versteht, also Gewebe, die nur spärliche oder gar keine Kapillarversorgung aufweisen, sondern auf dem Diffusionsweg ernährt werden, und bestimmte die Änderung des Trockenrückstandes und des Stickstoffgehaltes sowie des Kalzium- und des Cholesterinanteils der Gewebe in Abhängigkeit vom Alter. Dabei ergibt sich die auffällige Tatsache, dass sich zweierlei Prozesse (A_p und A_e) unterscheiden lassen. Die A_p-Prozesse verlaufen in der Jugend rascher als im Alter und folgen einer potentiellen, auch paraboloiden oder allometrischen Funktion von der allgemeinen Form

$$G = G_1 \cdot t^n, \tag{5}$$

wobei $n < 1$ ist (Trockengewicht und Stickstoff, Abbildungen 5 und 6); umgekehrt ist der Verlauf der A_e-Prozesse im Alter rascher als in der Jugend gemäss einer exponentiellen Funktion

$$G = G_0 \cdot e^{nt}, \tag{6}$$

wo n beliebige Werte annehmen kann (Kalzium- und Cholesteringehalt, Abbildungen 7 und 8)[1].

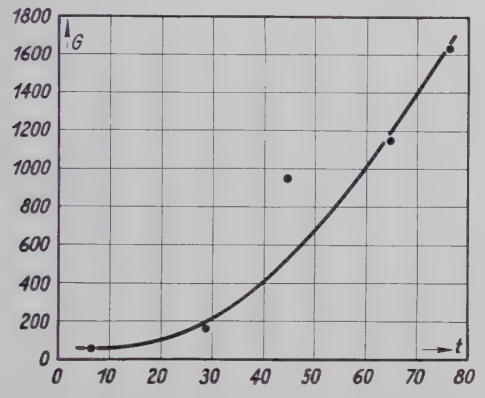


Abb. 7*a*. Kalziumgehalt G (in mg%) im Trockenrückstand der menschlichen Aorta in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren. Die Zunahme des Kalziumgehaltes pro Zeiteinheit verläuft nach einer ähnlichen Kurve.

$G = G_0 \cdot e^{nt} = G_0 \cdot 10^{0{,}434\,nt}$; $G_0 = 35{,}5$; $n = 0{,}053$.
Verdoppelungszeit = 13 Jahre.

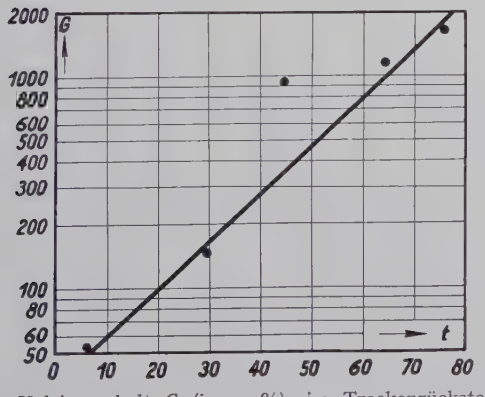


Abb. 7*b*. Kalziumgehalt G (in mg%) im Trockenrückstand der menschlichen Aorta in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren in logarithmischer Darstellung.

[1] Die benötigten Zahlenangaben der Abbildungen 5–8 sind dem Bürger'schen Buche entnommen (S. 76, 77 u. 79).

In den Abbildungen 5 und 6 ist jeweils auch der 1,1-Faktor $f_{1,1G}$ angegeben, der anzeigt, die wievielfache Zeit jeweils für eine Gewichtsvermehrung von 10% erforderlich ist, während in den Abbildungen 7 und 8 einfach die Verdoppelungszeit, also die für eine Gewichtsverdoppelung erforderliche Zeit vermerkt ist[1].

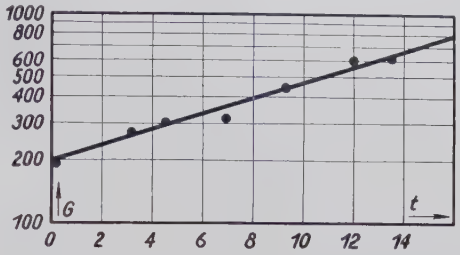


Abb. 8. Cholesteringehalt G (in mg%) im Trockenrückstand von Rinderlinsen in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren in logarithmischer Darstellung.

$G = G_0 \cdot e^{nt} = G_0 \cdot 10^{0{,}434\,nt}$; $G = 200$; $n = 0{,}083$.
Verdoppelungszeit = 8,5 Jahre.

Bereits 1897 hat Suter[2] an einem ausgedehnten Leichenmaterial gezeigt, dass der Umfang der menschlichen Aorta wesentlich vom Alter des Individuums abhängig ist. In Abbildung 9 sind die von ihm gefun-

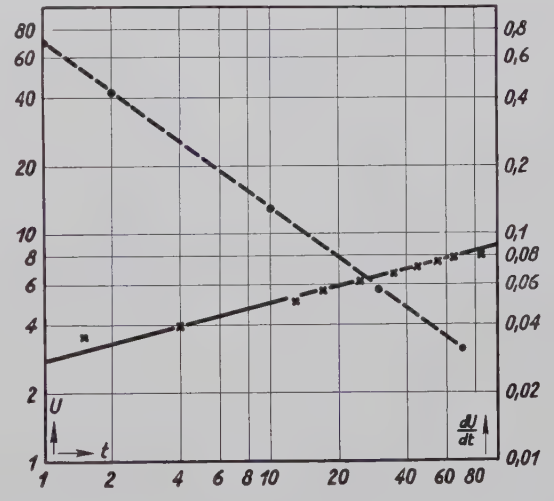


Abb. 9. Mittlerer Aortenumfang (Männer und Frauen) U in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren in bilogarithmischer Darstellung, ausgezogene Kurve: $U = U_1 \cdot t^n$; $U_1 = 2{,}66$ cm; $n = 0{,}263$; $f_{2U} = 13$. Zunahme des Aortenumfanges pro Zeiteinheit, gestrichelte Kurve: $dU/dt = n \cdot U_1 \cdot t^{n-1}$.

denen Mittelwerte wiedergegeben. Es liegt eine A_p-Funktion vor, erfolgt doch die Zunahme am raschesten in der Jugend. Dabei erfordert eine Verdoppelung des Umfangs eine Vermehrung der Altersjahre um das 13fache. Wie Suter ferner nachwies, nimmt die Dehn-

[1] Berechnet nach den Formeln

$$f_{1,1G} = \sqrt[n]{1{,}1} \tag{7}$$

$$t_{2G} = \frac{ln\ 2}{n} = \frac{\log 2}{0{,}434 \cdot n} = \frac{0{,}693}{n} \tag{8}$$

[2] F. Suter, Arch. Exper. Path. Pharm. *39*, 289 (1897).

barkeit der Aorta im umgekehrten Verhältnis zum Umfang mit dem Alter ab, so dass sich die altersbedingte Zunahme des Aortenumfangs als Kompensationserscheinung erweist, um den erforderlichen Blutdurchsatz sicherzustellen. Die Abnahme des elastischen Widerstandes der Aorta ist mit ein Ausdruck des abnehmenden Biotonus.

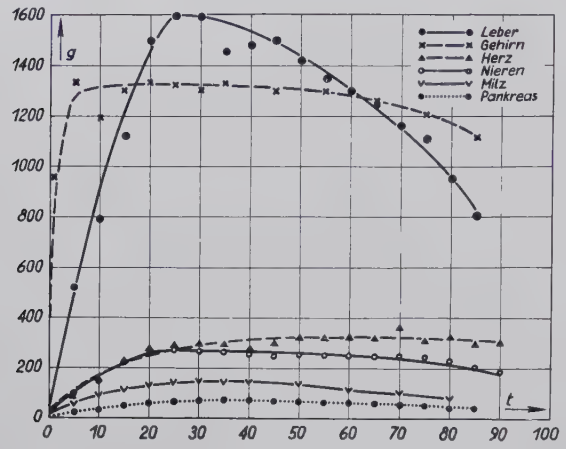


Abb. 10. Organgewichte in Gramm in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren.

Diese Veränderung des Biotonus kann *in situ* an Hand der Pulswellengeschwindigkeit verfolgt werden. So hat Wezler[1] den stetig absinkenden Quotienten der Pulswellengeschwindigkeit von Armarterie zu Aorta als anschauliches objektives Altersmass vorgeschlagen. Bürger[2] stellte eine auffallende Parallelität dieses Verlaufes mit demjenigen der Akkomodationsbreite der Augenlinse fest, während Bernstein[3] eine statistische Korrelation fand zwischen einer aus Brillenrezepten ermittelten, der Akkommodationsbreite ähnlichen Grösse und der Wahrscheinlichkeit, den Tod durch Herzschlag zu erleiden. Diese Ergebnisse verdienen eine eingehende Nachprüfung, insbesondere durch Feststellung des Verlaufes am einzelnen Individuum; denn eine objektive Bestimmungsmethode des «physiologischen Alters» auf Grund solcher relativ einfacher Messungen wie der Pulswellengeschwindigkeit und der Akkommodationsbreite wäre für die Alternsforschung von unschätzbarem Wert[4].

Ein ganz anderes Bild zeigen jene Veränderungen – wir nennen sie die B-Vorgänge – welche mit dem Auf- und Abbau des Organismus verbunden sind. Sie betreffen nicht nur den Organismus als Ganzes, sondern auch seine einzelnen Teile, die ebenfalls dem Rhythmus von Jugend, Reife und Alter mehr oder weniger rasch folgen. Dies zeigt sich zum Beispiel im Gewichtsverlauf der wichtigeren Organe wie Herz, Leber, Niere, Hirn, Milz, Pankreas, Hoden, Ovarien, Schilddrüse, Haut. Sie erreichen nach Bürger[1] ihr Maximalgewicht zwischen 20 und 40 oder mehr Jahren und nehmen hierauf wieder ab (Abb. 10). Parallel zur Regression der Geschlechtsdrüsen verläuft nach dem grossen, von Kinsey[2] vorgelegten statistischen Material eine entsprechende Abnahme der Geschlechtsfunktion. Aus Bürgers Angaben geht hervor, dass auch das Fingernagelwachstum und die Muskelkraft zu den B-Vorgängen zu zählen sind (Abb. 11).

Die B-Vorgänge kann man als die Resultante auf- und abbauender, assimilatorischer und dissimilatorischer, anabolischer und katabolischer Vorgänge ansehen. In der Jugend überwiegen die ersteren, in der Reifezeit halten sich beide die Waage, im Alter treten die letzteren hervor. Wie wir bereits gesehen haben, hat sich das Fliessgleichgewicht im Kampfe gegenläufiger Prozesse zu behaupten.

Besonders instruktiv erscheint der Vergleich mit dem An- und Abschwellen geschlechtsbedingter Organe kastrierter Tiere (Kamm, Uterus, Samenblasen usw.) unter dem Einfluss von Sexualhormonen. In Abbildung 12 sind einige bereits früher publizierte Zeitwirkungskurven aus unserem biologischen Laboratorium wiedergegeben[3]. Die kurzwirkenden freien Hormone verursachen einen mehr oder weniger linearen Anstieg und Abfall, während längerwirkende Ester zu ähnlichen Kurven führen, wie sie Abbildung 11 zeigt.

Es ist klar ersichtlich, dass ein ständiger Wachstumsreiz erforderlich ist, um die atrophischen Organe

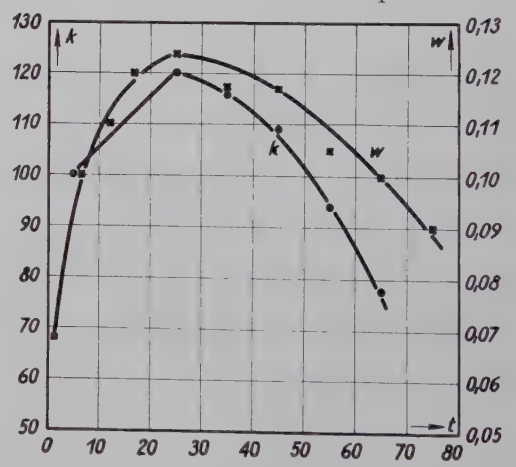


Abb. 11. Muskelkraft der Hand (k in Relativzahlen) und tägliches Fingernagelwachstum (w in mm) in Abhängigkeit vom Alter t in Jahren[4].

[1] K. Wezler, Z. Altersforsch. *4*, 1 (1942).

[2] M. Bürger, *Altern und Krankheit*, S. 172.

[3] F. Bernstein, 14. Int. Soziologenkongress, Bd. II, 30. Aug. bis 3. Sept. 1950, Rom, S. 1–17; Arch. Opthalmol., Vol. *34*, 378 (1945). Siehe hiezu auch M. Bürger, *l. c.*, S. 271.

[4] Im Herbst 1955 hat sich in Basel eine Arbeitsgemeinschaft für Alternsforschung gebildet (Vorsitz Prof. F. Verzár), die entsprechende laufende Untersuchungen an *einzelnen* Versuchspersonen eines grösseren Kollektivs aus der Industrie über lange Zeitläufe hinweg vornehmen will. Es ist zu hoffen, dass derartige Arbeitsgruppen auch anderswo analoge Probleme in Angriff nehmen werden.

[1] M. Bürger, *Altern und Krankheit*, S. 114, 121, 194, 120 und 115. Die relative Konstanz des Herzgewichts bis ins hohe Alter ist dagegen bemerkenswert.

[2] A. C. Kinsey, *Sexual Behavior in the Human Male* (1949) and *Female* (1953), Philadelphia and London.

[3] Siehe zum Beispiel: K. Miescher, A. Wettstein und E. Tschopp, Biochem. J. *30*, 1983 (1936). – K. Miescher, C. Scholz und E. Tschopp, Biochem. J. *32*, 729 (1938); Biochem J. *32*, 1278 (1938). – E. Tschopp und R. Meier, Schweiz. med. Wschr. *84*, 5 (1954).

[4] M. Bürger, *Altern und Krankheit*, S. 164 und 259.

gleichsam aufzuladen und auf vollem Biotonus zu halten; sobald der Reiz nachlässt, tritt Atrophie ein (ähnlich Muskelschwund bei Nichtgebrauch). Die Versuche mit langwirkenden Hormonestern oder -kristallen sind insofern besonders interessant, weil hier der Hormonreiz nur allmählich abklingt und damit Verhältnisse geschaffen werden, die auch dem natürlichen Wachstumsverlauf entsprechen. Während aber im letzteren Fall die Regression nur beschränkt erfolgen kann, können die sekundären Geschlechtsorgane nahezu in den Ausgangszustand zurückkehren.

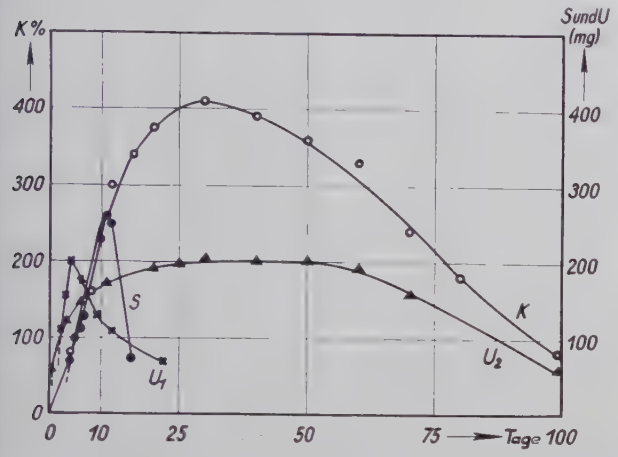


Abb. 12. Kapaunenkamm-, Samenblasen- und Uteruswachstum nach einmaliger Gabe von Sexualhormonen. K = Kammwachstum beim Kapaun (relative Flächenzunahme) nach 10 mg Triolandren (Gemisch von Testosteronpropionat, -valerianat und -undecylenat) in Öl. S = Samenblasengewicht (kastrierte Ratte) nach 2 mg Testosteronpropionat in Öl. U_1 = Uterusgewicht (kastrierte Ratte) nach 50 γ Östradiol + 200 mg Stearylalkohol. U_2 = Uterusgewicht (kastrierte Ratte) nach 50 γ Östradiol-17-caprylat in Öl.

Die Vermutung erscheint naheliegend, dass der Gesamtkomplex der Hormone und wohl auch anderer Wirkstoffe für die Tonisierung des Organismus eine ähnliche entscheidende Rolle spielt, wie sie den Sexualhormonen gegenüber den sekundären Geschlechtsorganen zukommt. Sie vermitteln die erforderliche tonische Aufladung bis zur Zellvermehrung durch Ausnützung der vorhandenen Energiequellen.

Ob sich manche B-Prozesse wie die A-Prozesse durch einfachere Funktionen beschreiben lassen, bedarf noch weiterer Abklärung. So könnte man daran denken, den gegenläufigen Vorgang von Auf- und Abbau in Abhängigkeit von der Zeit als Differenz zweier allometrischer Funktionen, (siehe Abbildung 13):

$$x = k_1 t^{n_1} - k_2 t^{n_2} \qquad (9)$$

als negative Summe zweier Exponentialfunktionen (umgekehrte Kettenlinie):

$$x = -\left[e^{n_1 t} + e^{-n_2 t}\right] \qquad (10)$$

oder als reziproken Wert einer solchen Summe (reziproke Kettenlinie):

$$x = \frac{1}{e^{n_1 t} + e^{-n_2 t}} \qquad (11)$$

zu beschreiben, wobei die letzte Darstellungsart den Vorzug besitzt, auch den S-förmigen Verlauf der Kurve am Anfang prinzipiell richtig wiederzugeben[1].

Überlegen wir uns, worin sich die A- und B-Vorgänge des Alternsprozesses unterscheiden, so ist es für beide charakteristisch, dass sie schon mit der Geburt beginnen und bis zum Tode weiterschreiten. Als Alternsvorgang manifest werden aber die B-Vorgänge erst nach Überschreitung eines Kulminationspunktes, der offenbar je nach dem Organ oder Organsystem zu verschiedener Zeit, teilweise aber auch schon sehr früh erreicht wird.

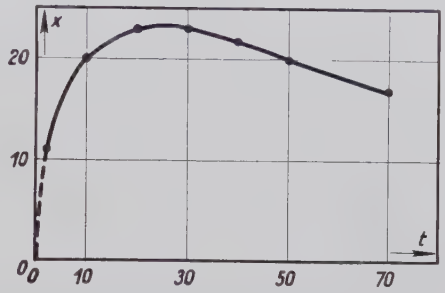


Abb. 13. Schematische Darstellung eines B-Vorganges als Differenz zweier allometrischer Funktionen durch die Gleichung $x = 10\,t^{0,5} - 1{,}5\,t^{0,9}$.

9. Altern als Resultante von Schädigung und vitalem Widerstand. Claude Bernard bezeichnete das Leben als die Summe aller Faktoren, die dem Tode widerstehen. Eine ähnliche Betrachtungsweise des Alternsvorganges geht auf den deutschen Physiologen Pütter[2] zurück. Er sieht ihn als das Ergebnis des Kampfes zwischen auf den Organismus wirkenden (äusseren und inneren) Schädigungen (S) und dessen Widerstandsvermögen (W) an. Unter diesen Voraussetzungen lassen sich theoretisch folgende Fälle unterscheiden[3]:

a) $S \leqq W$

Ein solcher Zustand würde dem Organismus Unsterblichkeit gewähren.

b) $S > W$ (S und W sind konstant)

Handelt es sich um eine Population von Organismen, so nimmt die Zahl der Individuen in exponentieller Weise ab, wie Pütter an Hand der Befunde von Paul, Binstein und Plüss für die Abtötung einer Staphylokkenkultur durch $n/100$ Salpetersäure zeigen konnte (Abb. 14). In der Exponentialgleichung (12) bedeutet x die Zahl der Überlebenden zur Zeit t, x_0 die Zahl der Organismen zu Versuchsbeginn ($t = 0$) und n die Geschwindigkeitskonstante des Absterbens. Sie beträgt im vorliegenden Fall 0,068;

$$x = x_0 e^{-nt} \text{ oder } n = \frac{ln\, x_0 - ln\, x}{t} \qquad (12)$$

[1] Siehe hiezu E. Janisch, *Das Exponentialgesetz als Grundlage einer vergleichenden Biologie* (Verlag Julius Springer, Berlin 1927).
[2] A. Pütter, Z. Allg. Physiol. *19*, 9 (1921).
[3] Siehe hiezu Diskussionsbemerkung von K. Miescher (CIBA Foundation, 1955), *Colloquia of Ageing*, Bd. I, S. 56.

Bei Verwendung von Briggschen Logarithmen, wie in Abbildung 14, ist diese Konstante noch mit log e = 0,434 zu multiplizieren.

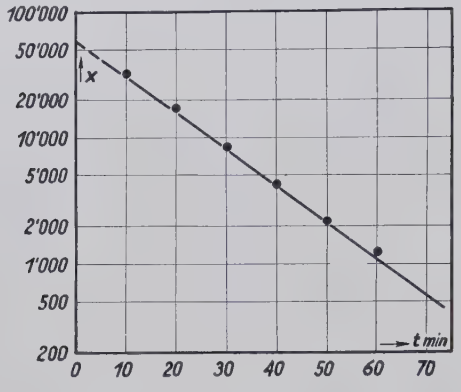


Abb. 14. Zahl x der keimfähig gebliebenen Bakterien, in einer mit n/100 Salpetersäure behandelten Staphylokokkenkultur zur Zeit t in Minuten. • beobachtet, — berechnet nach

$$x = x_0 \cdot e^{-nt} = x_0 \cdot 10^{-0{,}434nt};\ x_0 = 62800;\ n = 0{,}068.$$

Halbwertszeit = 10,4 min.

Eindrücklicher als die Geschwindigkeitskonstante n ist auch hier für den Biologen die Angabe der Halbwertszeit $t_{1/2}$, das heisst der Zeit, die jeweils für das Absinken der Organismenzahl auf die Hälfte erforderlich ist[1]. Im vorliegenden Fall beträgt sie 10,4 min. Es erfolgt übrigens die Vernichtung der Bakterien nach demselben Gesetz wie der Zerfall radioaktiver Elemente, worauf sich ja die biologische Treffertheorie stützt[2].

Obwohl eine zunehmende Vernichtung der Individuen erfolgt und damit auch eine mittlere Lebensdauer errechenbar ist, kann nicht von einem Altern der Bakterien (so wenig wie von einem solchen radioaktiver Elemente) gesprochen werden, da ja während der Versuchsdauer die Widerstandskraft der Bakterien praktisch dieselbe blieb.

c) $S > W$, S = konstant, W = abnehmend

Wurde in Gleichung (12) n als konstant angenommen, so soll sich nun diese Konstante selbst in Abhängigkeit von der Zeit ändern. Als einfachsten Fall nimmt Pütter an, sie nehme ebenfalls in exponentieller Weise ab[3], und ersetzt n in Gleichung (12) durch $ke^{\alpha t}$. Damit gelangen wir zur Gleichung (14) einer Sigmoiden:

$$x = Ae^{-kte^{\alpha t}} \qquad (14)$$

Diese Gleichung ist praktisch identisch mit der schon längst von der Versicherungsmathematik verwendeten Gompertz-Makehamschen Sterbeformel[1]. Sie erfuhr aber durch Pütter eine neue Interpretation, indem er die Konstante k als *Vernichtungsfaktor* (Geschwindigkeitskonstante des Absterbevorgangs bei konstanter Schädigung S) und die Konstante α als *Alternsfaktor* (Geschwindigkeitskonstante des Vorganges W) begründete. α misst die Geschwindigkeit des Alterns aus inneren Gründen. Je grösser k und α sind, um so stärker erweisen sich die Schädigungen S und umso rascher nimmt das Widerstandsvermögen W ab.

Der sigmoide Verlauf ist charakteristisch für das Überleben menschlicher und tierischer Populationen[2]. Abbildung 15 zeigt nach Pütter die Zahl der Überlebenden vom 20. Lebensjahr an[3], bezogen auf 100000 Lebendgeborene (Mittel für Männer und Frauen der deutschen Sterbetafel für 1871–1881). Pütter wies nach, wie der Alternsfaktor α für verschiedene Populationen charakteristische Werte annimmt. Die blosse Angabe einer Verlängerung der mittleren Überlebensdauer sagt über das Alterungsgeschehen nichts aus, da

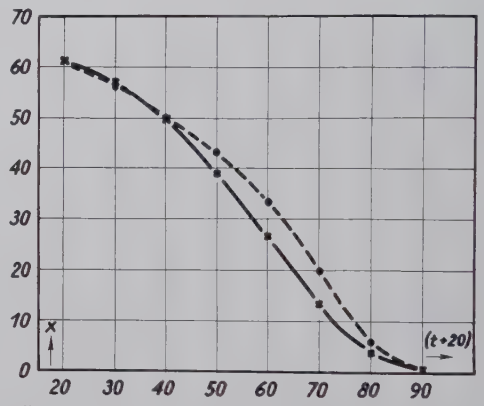


Abb. 15. Überlebenskurve des Menschen vom 20. Lebensjahr an. • beobachtet × berechnet nach

$$x = x_{20} \cdot e^{-kte^{\alpha t}};\ x_{20} = 60810$$

Vernichtungsfaktor k = 0,005; Alternsfaktor α = 0,037; x in tausend Überlebenden; t in Jahren.

sie ebenso gut durch eine Minderung von S allein bedingt sein mag (Abwendung von Schädigungen), ohne dass eine Erhöhung der inneren Widerstandskräfte erfolgt ist.

In Wirklichkeit stellen beim Einzelindividuum k und α keine Konstanten dar, werden doch W und insbeson-

[1] Berechnet nach der Formel:

$$t_{1/2} = \frac{ln\ 2}{n} = \frac{0{,}693}{n} \qquad (13)$$

Wegen des negativen Exponenten wird die Formel für die Halbwertszeit gleich derjenigen für die Verdoppelungszeit. Seite 423).

[2] Siehe zum Beispiel P. Jordan, *Die Physik und das Geheimnis des organischen Lebens*, 5. Aufl. (Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig 1947), S. 65.

[3] A. Pütter denkt dabei an den Verlauf der Zustandsänderung von Kolloiden.

[1] Siehe zum Beispiel: E. Zwinggi, *Versicherungsmathematik* (Verlag Birkhäuser, Basel 1945); Mitt. Vg. schweiz. Vers.-mathem. *42*, 77 (1942). Diesen Hinweis verdanke ich Herrn P.D. Dr. E. Batschelet.

[2] Siehe hiezu das interessante Übersichtsreferat von A. Comfort, *Biological aspects of senescence*, Biol. Rev. *29*, 284 (1954). Auch rein mechanische Vorrichtungen wie Autos zeigen ähnliche Abnützungskurven. Wieder ist zu unterscheiden zwischen schädlichen Einwirkungen und der Qualitätszustand des Materials.

[3] Nach neueren Sterbetafeln erhöht sich dieses Alter; wir sahen übrigens, dass auch der Wendepunkt in der Kurve des Grundumsatzes und das Maximalgewicht der Organe wesentlich über 20 Jahren liegt. Die schweizerischen Sterbetafeln lassen in den letzten Jahrzehnten eine Verschiebung des Gültigkeitsbeginns der Gompertz-Makehamschen Sterbeformel bis gegen das 35. Altersjahr erkennen; sie macht erst in neuester Zeit wieder einer rückläufigen Tendenz Platz. (Privatmitteilung von Prof. Zwinggi.)

dere S stärkeren Schwankungen unterworfen sein. Trotzdem konnte Pütter zeigen, dass Gleichung (14) interessante Vergleiche, selbst zwischen dem Geschehen bei Mensch und Tier gestattet.

Im übrigen möchten wir mit v. Bertalanffy[1] auf die Berechtigung solch summarischer Betrachtungen auf biologischer Ebene hinweisen. Wenn auch die ungezählten Einzelaktionen unberücksichtigt bleiben müssen, so kann trotzdem das Gesamtergebnis einen mehr oder weniger gesetzmässigen Verlauf aufweisen.

10. Adaptation, Regeneration, Überkompensation. Im Zusammenhang mit der Bestimmung des Geschwindigkeitsverlaufs der Alterungsprozesse wird auch die Adaptations- oder Regenerationsgeschwindigkeit des Organismus und seiner Teile in Abhängigkeit vom Alter zu prüfen sein, insbesondere bei Vorgängen, wie sie in Form von Ermüdung, bei Reizung der Sinnesorgane oder infolge verschiedenartiger Schädigungen zu beobachten sind[2].

Nach Lecomte de Nouy nimmt die Vernarbungsgeschwindigkeit beim Menschen mit dem Alter hyperbelartig ab[3]. Der Unterschied ist dagegen nach Bourlière[4] bei Ratten weniger ausgesprochen. Immerhin redet Tabelle IV eine deutliche Sprache, nimmt doch bei Verbrennungen des Menschen das Ausmass der verbrannten Körperfläche, bei der noch mit einer 50%igen Lebenserwartung zu rechnen ist, mit dem Alter stark, in nahezu exponentieller Weise ab[5] (Halbwertszeit etwa 48 Jahre).

Tabelle IV

Mittleres Alter Jahre	Verbrannte Körperoberfläche (Mensch) (50%ige Lebenserwartung) %
5	51%
31	43%
55	23%
71	9%

Da auch Vorgänge von der Art der A-Prozesse keineswegs statisch, sondern ausgesprochen dynamisch verlaufen, indem vorzu ein Umsatz aller Körperbestandteile stattfindet, so wäre die Kenntnis der Änderung der Umsatzgeschwindigkeit der Bestandteile der Zellen[1], Knochen usw., aber auch der Ansprechbarkeit der Gewebe auf chemische Reize, Arzneimittel usw. in Abhängigkeit vom Alter von besonderem Interesse.

Zu beachten ist, wie schon Ostwald hervorhob, dass der Organismus auf Reize zumeist mit Überkompensation antwortet; man denke an den Einfluss des Trainings auf die Muskulatur, an die Verdickung der Epidermis nach mechanischer Beanspruchung oder starker Belichtung, an die Vorgänge der Immunisierung gegenüber Giften oder Infektionskeimen usw. Ostwald spricht von Überheilung[2] und weist darauf hin, dass auch diese Vorgänge vom Alter abhängig sind, indem Kompensations- bzw. Adaptionsfähigkeit und wohl auch deren Geschwindigkeit mit dem Alter abnehmen.

Wichtig ist es nun, eine Reihe solcher mit dem Alter in Zusammenhang stehender Geschwindigkeitsfaktoren zu eigentlichen Alternstesten, besonders im Tierversuch zu entwickeln, um zu ermitteln, wie weit die Vorgänge parallel gehen oder voneinander abweichen, und ob ihr Verlauf durch äussere Mittel, wie Nahrung, Klima, Pharmaka und dergleichen zu beeinflussen ist. Zwar vertritt Bürger die Ansicht[3], dass eigentliche Alterungsvorgänge durch irreversiblen Verlauf gekennzeichnet sind. Allein der Umfang der Irreversibilität ist noch unbekannt. Aber selbst da, wo Irreversibilität besteht und damit eine «Verjüngung» ausgeschlossen erscheint, ist es von Interesse, zu prüfen, wie weit der Alternsprozess abgebremst oder gar aufgehalten werden kann.

11. Pathologie des Alterns. Natürlich wird sich die Alternsforschung auch jener Vorgänge und Krankheiten besonders annehmen, die vorzugsweise im Alter auftreten, wie Klimakterium, Kreislauf- und Gefässstörungen, Arthritis, Gicht, Krebs, Alterspsychose, also von Störungen, die unter dem Namen «degenerative» Krankheiten zusammengefasst werden. Dabei erscheint die Frage müssig, ob solche Krankheiten bloss für die späteren Altersjahre charakteristisch sind. Der Organismus, auch einzelne Organe, können durch Anlage oder Krankheit vorzeitig gealtert sein. Es wäre also eher die Frage nach dem «physiologischen Alter» zu stellen. Es sei auch daran erinnert, dass Steele bei Untersuchungen in USA arteriosklerotische Verände-

[1] L. v. Bertalanffy, *Theoretische Biologie 2*, 2. Aufl., S. 271 (1951).

[2] Siehe zum Beispiel F. Verzár und E. Flückiger, *Adaptation an niedrigen atmosphärischen Druck bei alten Tieren*, Schweiz. med. Wschr. *84*, 1322 (1954). – L. Binet und F. Bourlière, Précis de Gérontologie, Kap. I.

[3] Siehe M. Bürger, *Altern und Krankheit*, 2. Aufl. (Verlag G. Thieme, Leipzig 1954), S. 42.

[4] F. Bourlière und M. Gourévitch, Comp. rend. Soc. biol. *144*, 377 (1950). – N. W. Shock, *Problems of Ageing*, 15th Conference, sponsored by the Josiah Macy jr. Foundation, New York 1953, S. 166.

[5] Mitteilung von P. B. Medawar anlässlich der Tagung der CIBA Foundation in London vom Juli 1954. Die Zahlenwerte stammen aus einer Arbeit von J. P. Bull und J. R. Squire, Ann. Surg. *130*, 160 (1949).

[1] Nach G. de C. Elliott und G. Hevesy, Acta Phys. Scand. *19*, 370 (1950) geht auf Grund von Versuchen mit radioaktivem Phosphor der Phosphorumsatz in der Rattenleber von 4 Tage alten Tieren doppelt so rasch vor sich als bei 1,5 Jahre alten Tieren. Wünschenswert wäre es in Zukunft, den genaueren Verlauf solcher Umsätze in Abhängigkeit vom Alter zu kennen. Herrn Prof. Hevesy, dem Altmeister auf dem Gebiete der biologischen Tracerforschung, sei hier für den Hinweis auf seine Arbeit besonders gedankt.

[2] W. Ostwald, *Überheilung, ein Urphänomen der Biologie*, Neue freie Presse, Wien, 18. Oktober 1925; Forsch. Fortschr. *6*, 296, 327 (1930).

[3] M. Bürger, *Altern und Krankheit*, 2. Aufl. (VEB G. Thieme, Leipzig 1954), S. 2.

rungen nahezu bei jedem über 20jährigen, ja schon bei über 7jährigen beobachtete[1].

12. Altersdefinition. Altern ist, wie wir sahen, ein äusserst komplexer Vorgang. So bedeutet die Wachstumsphase des Organismus im Hinblick auf die gegensinnig verlaufenden *B*-Vorgänge wohl ein Älterwerden, nicht aber ein eigentliches Altern, während dieses bezüglich der einsinnig verlaufenden *A*-Vorgänge bereits am Werke ist.

Folgender Definitionsversuch des Alterns sei zur Diskussion gestellt[2]:

Unter Altern verstehen wir jene Vorgänge, die eine dauernde Abnahme des Widerstandsvermögens des Organismus gegen äussere und innere Schädigungen bewirken. Dabei ist der Alternsprozess mit einer Abnahme der verfügbaren Energie und einem Absinken des Biotonus im Sinne einer verminderten Anpassungsfähigkeit verbunden[3].

Diese an Pütter sich anlehnende Definition soll nur ein Rahmen sein, der unseren heutigen Kenntnissen entspricht.

Der von uns zur Diskussion gestellte biologische Begriff des «Biotonus» umfasst gleichzeitig eine Reihe für das lebendige Geschehen wichtiger physischer, ja selbst psychischer Faktoren wie Biopotentiale, Energiereserven und ihre Einsatzbereitschaft, Elimination von Ermüdungsstoffen, Elastizität, Funktionstüchtigkeit, wie auch die Art des mehr oder weniger befriedigenden Zusammenspiels.

Ein günstiger Biotonus liegt bei optimaler Lage all dieser Faktoren vor, ein ungünstiger, wenn einzelne oder alle nicht optimal gelagert sind. Man denke etwa an den herabsetzenden Einfluss auf den Biotonus bei Krankheit und Alter. Ein jeder weiss selbst Bescheid über seinen Biotonus: Er ist hoch, wenn man frisch und ausgeruht, tief wenn man abgearbeitet und müde ist. Auch der Arzt kann den Patienten unschwer daraufhin beurteilen. Es wird aber notwendig sein zu versuchen, diesen der Sphäre der Intuition entnommenen Begriff immer mehr zu präzisieren und zu objektivieren. Dazu möchten unsere Ausführungen anregen; selbstredend bedarf der ganze Fragenkomplex noch gründlicher Bearbeitung.

13. Schluss. Sind für den Forscher die allgemeinen Gesetzmässigkeiten von Wichtigkeit, so interessiert den Arzt mehr das Schicksal des Einzelindividuums. Damit ergibt sich die Forderung, möglichst charakteristische Teste an Mensch und Tier auszuarbeiten, die nicht nur die physiologische Alterslage des Gesamtindividuums, sondern auch seiner Teile und Funktionen zu prüfen gestatten und zugleich den Weg zu aktivem therapeutischem Eingreifen weisen.

Neben den physischen Vorgängen dürfen aber die psychischen und geistigen Belange nicht vergessen werden. Hier kann nicht nur am Tier[1], sondern mit Vorteil am Menschen geforscht werden. In diesem Zusammenhang sei an die für die Berufsprüfung ausgebildeten Eignungsteste erinnert, von denen sich zweifellos manche auch zu Alternstesten verwenden lassen. Schliesslich ist es der Geist, der den Alterszustand gerade beim Menschen entscheidend mitbestimmt.

Abschliessend sei nochmals auf die wichtige Feststellung hingewiesen, dass das Alter nur den Endzustand eines Prozesses darstellt, der schon bei der Geburt einsetzt und teils mit ständig zu- oder abnehmender Geschwindigkeit weiterläuft, teils aber erst nach Überschreiten eines Kulminationspunktes zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr als Alternsvorgang im üblichen Sinne manifest wird. Präventive Massnahmen sind daher zweckmässig schon frühzeitig vorzukehren.

Jedenfalls darf mit der Einführung des Experiments auf breiter Basis und im weitesten Sinne mit relativ raschen und weittragenden Ergebnissen der Alternsforschung von grosser sozialer Bedeutung gerechnet werden.

Zum Schluss möchte ich Kollegen und Fachgenossen, insbesondere den Herren Prof. v. Albertini, P.D. Dr. Batschelet, P.D. Dr. Brückner, Prof. Goldmann, Dr. Gross, Prof. Meier, Prof. v. Muralt und Prof. Zwinggi für ihr reges Interesse meinen besten Dank aussprechen. Wesentlichen Dank schulde ich den Herren Prof. Verzár und Dr. Rometsch für mannigfache aufklärende Diskussionen, sowie Frau Thürkauf für die Anfertigung der Abbildungen.

Summary

Starting from the social problem of increasing average age, the aims and methods of modern research on ageing are discussed. They are based on experiment and observation of the ageing processes over the whole span of life from birth to death, corresponding to the shifting of the steady state characterising the living. Here, the energy economy of the organism, the maintenance of the biopotentials and the biotone are of special importance. The energy requirement is measured by means of the basal metabolism, this depending on the size of the organism. In this connection, the hypothesis of Rubner concerning the constancy of the amount of energy convertible per individual is discussed. Further considerations are given to the course of the ageing processes,

[1] J. Murray Steele, *Cowdry's Problems of Ageing*, herausg. von A. J. Lansing, 3. Aufl. (The Williams & Wilkins Comp., Baltimore 1952), S. 306. Dies steht im Gegensatz zu Beobachtungen an jungen koreanischen Gefallenen des jüngsten Krieges.

[2] Siehe auch A. Comfort, *Biological aspects of senescence.* "Senescence is a change in the behavour of the organism with age, which leads to a progressively decreasing power of survival and adjustment". Biol. Rev. *29*, 284 (1954); ferner CIBA Foundation, *Colloquia of Ageing*, Bd. I (1955): P. B. Medavar, S. 4, K. J. Franklin, S. 31, und *General Discussions*, S. 238.

[3] Diese Definition gilt für Warmblüter; wie F. Bourlière und andere gezeigt haben, verhalten sich Kaltblüter in mancher Beziehung grundlegend anders.

[1] E. J. Verzár-McDougall, *Untersuchungen über Lernen und Erinnern bei jungen und alten Ratten*, Schweiz. med. Wschr. *84*, 1321 (1954).

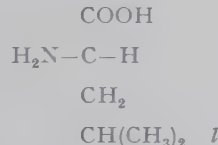
whether of single organs or of a population of organisms. The survival statistics of the latter may be interpreted according to PÜTTER as the result of the combat between damage and resistance. The connection between the change of adaptive and regenerative capacity and the diseases of old age is mentioned. Finally, the psychological and mental aspects are emphasised. In addition to statistical studies on senescence, prolonged observation on single individuals is afforded and suitable tests to follow the ageing processes have to be elaborated.

Mögliche Beziehungen der optischen Aktivität zum Problem des Alterns[1]

Von W. KUHN[2], Basel

1. *Vorkommen und Bedeutung optisch aktiver Stoffe im Organismus*

Es ist bekannt, dass optisch aktive Stoffe stets in zwei Formen, einer rechtsdrehenden und einer linksdrehenden, auftreten und dass sich (nach PASTEUR) die Moleküle der rechts- und der linksdrehenden Form wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten. Die zueinander spiegelbildlichen Modifikationen einer optisch aktiven Substanz werden auch als optische Antipoden bezeichnet.



l-(+)-Leucin I

Ebenso ist es bekannt und sehr merkwürdig, dass die lebenden Organismen zu ihrem Aufbau in der Regel und gerade in den wichtigsten Fällen nicht beide Antipoden, sondern *nur die eine der möglichen spiegelbildlichen Formen* verwenden. Von den beiden Formen von Leucin, einer der im Eiweiss vorkommenden Aminosäuren, wird beispielsweise in den pflanzlichen und tierischen Organismen nur oder fast nur die in Formel I wiedergegebene Form, das *l*-(+)-Leucin, verwendet. Analoges gilt für andere optisch aktive, in den Proteinen vorkommende, Aminosäuren und für die in den Organismen vorkommende Glukose, Fruktose usw. Die Aminosäuren werden in den Organismen in so hohem optischem Reinheitsgrade verwendet, dass der Nachweis einer Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades dieser Stoffe schwierig ist und erst in neuerer Zeit in ganz wenigen Fällen, so im Falle des Leucins und der Glutaminsäure, sichergestellt wurde. Im Falle der Glukose fehlt bisher jede Andeutung einer Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades.

Um die Bedeutung der optisch aktiven Stoffe und die Besonderheiten, die sich bei Verwendung optisch aktiver Stoffe für den Organismus ergeben, klarzumachen, betrachten wir die Verhältnisse, welche beim Zusammenbringen von *l*-(+)-Leucin-methylester (dem Methylester der Verbindung I) mit der positiv und der negativ drehenden Form von 1,1'Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure beobachtet werden. Die Formel der eben genannten Säure ist für das Folgende von untergeordneter Bedeutung und braucht daher nicht wiedergegeben zu werden. Wesentlich ist, dass die Kombination *l*-(+)-Leucinmethylester mit *positiv* drehender Dioxydinaphtyldikarbonsäure [abgekürzt die Kombination (+)-L, (+)-S] ein *schwerlösliches Salz* liefert, ein Salz, von dem sich bei 28,5° C in 100 g Methanol 0,44 g lösen, während die Kombination *l*-(+)-Leucinmethylester mit *negativ* drehender Dioxydinaphtyldikarbonsäure [abgekürzt die Kombination (+)-L, (−)-S] *ein leichtlösliches Salz* liefert, ein Salz, von dem sich bei 28,5° C in 100 g Methanol 101 g lösen[1].

Es ergibt also die Kombination (+)-*L*, (−)-*S eine Löslichkeit, welche rund 200mal grösser ist als die Löslichkeit der Kombination* (+)-*L*, (+)-*S*. Analoge, aber quantitativ nicht immer so ausgeprägte Unterschiede treten auf, wenn anstatt (+)-Leucinmethylester ein anderer Aminosäureester mit dem positiv oder negativ drehenden Antipoden irgendeiner andern optisch aktiven Säure zusammengebracht wird.

Aus dem Beispiel und dessen Verallgemeinerung ersehen wir, dass die Löslichkeitsverhältnisse der etwa aus Leucin und *d*-Weinsäure entstehenden Salze ganz andere wären, wenn wir das in Wirklichkeit vom Organismus verwendete *l*-(+)-Leucin ganz oder teilweise durch den Antipoden ersetzen würden. Neben den Löslichkeiten würden auch andere Gleichgewichte sowie alle Reaktionsgeschwindigkeiten geändert werden[2]. Es ist auf Grund solcher Tatsachen durchaus zu verstehen, dass ein geordneter Ablauf der im Organismus stattfindenden Reaktionen nur bei Verwendung

[1] Vortrag, gehalten vor der Schweizerischen Gerontologischen Gesellschaft in Basel am 11. Dezember 1954.

[2] Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

[1] W. KUHN und K. VOGLER, Z. Naturforsch. *6b*, 232 (1951).

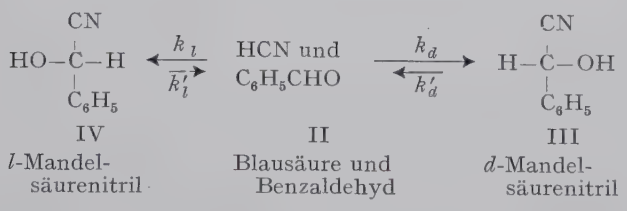
[2] Für eine Zusammenstellung von Verschiedenheiten diastereoisomerer Verbindungen siehe zum Beispiel W. KUHN, Ergebn. Enzymforsch. *5*, 1 (Leipzig 1936); ebenso in F. F. NORD und R. WEIDENHAGEN, *Handbuch der Enzymologie* (Leipzig 1940), S. 188.

der vom Organismus in Wirklichkeit eingesetzten optischen Antipoden möglich ist. Das Vorhandensein eines hohen optischen Reinheitsgrades der genannten optisch aktiven Stoffe in allen lebenden Organismen *kann* darauf zurückzuführen sein, *dass der hohe Reinheitsgrad für den geordneten Ablauf der Lebensvorgänge notwendig ist, so dass Individuen, bei welchen der Reinheitsgrad eine winzige Einbusse erlitten hat, absterben. Wenn dies der Fall ist, werden nämlich, wie es den Beobachtungen entspricht, Individuen mit unvollkommenem optischem Reinheitsgrad in einer an lebenden Organismen durchgeführten Untersuchung nicht vorkommen.*

2. *Synthese optisch aktiver Substanz im Organismus*

Da alle in den Organismen verwendete organische Substanz letzten Endes aus der Kohlensäure der Luft sowie aus einfachen Verbindungen, wie Ammoniak usw., herrührt, ist es klar, dass die Organismen die von ihnen benötigte optisch aktive Aufbausubstanz *selbst* aus inaktivem Material herstellen. Es ist von Interesse, die Bedingungen, unter denen das geschehen kann und tatsächlich geschieht, zu präzisieren. Diese Diskussion wird zeigen, dass eine Synthese praktisch genommen reiner optisch aktiver Substanz aus inaktivem Material tatsächlich möglich ist, dass aber in einem gegebenen Organismus mit fortschreitender Zeit zwangsläufig eine gewisse Minderung des optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen stattfinden muss[1].

Wir machen das Wesentliche am Beispiel der Synthese von optisch aktivem Mandelsäurenitril aus Benzaldehyd und Blausäure klar. Aus den inaktiven Ausgangsprodukten (Formel II) kann sich, wie durch nachstehendes Schema angedeutet ist, *d*- oder *l*-Mandelsäurenitril (Formel III und IV) bilden:



Da *d*- und *l*-Mandelsäurenitril Spiegelbilder voneinander sind, besitzen sie *genau dieselbe Energie*, und sie bilden sich gleich gut, das heisst mit *derselben Gleichgewichtskonstante* K aus den optisch inaktiven Ausgangsprodukten.

Trotz der Übereinstimmung der Gleichgewichtskonstanten beim Übergang von II zu III oder IV ist es verständlich, dass bei Anwendung eines *optisch aktiven* Katalysators, eines Enzyms, das dem Organismus zur Verfügung steht, zunächst *eine fast vollständige Umsetzung des Ausgangsproduktes II zu praktisch genommen reinem d-Nitril (III) möglich ist.* Bei Anwendung eines optisch aktiven Katalysators bilden sich bei der Synthese von *d*-Nitril einerseits, von *l*-Nitril anderseits Zwischenverbindungen, welche den in Abschnitt 1 besprochenen Verbindungen (+)-L, (+)-S und (+)·L, (−)-S analog und somit hinsichtlich der Energie und der Reaktionsgeschwindigkeit ganz verschieden sind. Im jetzigen Fall wäre (+)-L der optisch aktive Katalysator und (+)-L, (+)-S, bzw. (+)-L, (−)-S eine der Zwischenstufen auf dem Wege der Bildung von *d*- bzw. *l*-Mandelsäurenitril. Um im vorliegenden Falle anzudeuten, dass sich das *d*-Nitril bei Benützung des optisch aktiven Katalysators *viel rascher* als das *l*-Nitril bildet, dass also trotz Gleichheit der Gleichgewichtskonstanten durch den aktiven Katalysator eine verschieden grosse *Reaktionsgeschwindigkeit* bewirkt wird, deuten wir die Bildungsgeschwindigkeit des *d*-Nitrils durch einen langen Pfeil k_d die Bildungsgeschwindigkeit des *d*-Nitrils durch einen viel kürzeren Pfeil k_l an. Die Tatsache, dass eine, wenn auch wenig hervortretende Rückreaktion des *d*- oder *l*-Nitrils in die Ausgangsprodukte stattfindet, deuten wir durch einen entsprechend kürzeren Pfeil k'_d und k'_l an. Für die Katalyse charakteristisch und wesentlich ist es, dass die Gleichgewichtskonstante

$$K = \frac{k_d}{k'_{d'}} = \frac{k_l}{k'_{l'}} \qquad (1)$$

durch den Katalysator *nicht* beeinflusst wird, das heisst, dass der Katalysator, der k_d gross macht, auch die Geschwindigkeitskonstante $k'_{d'}$ der inversen Reaktion erhöht. Dieses auch für Enzyme gültige Gesetz ist im Falle der enzymatischen Nitrilsynthese durch unmittelbare Beobachtung bestätigt worden[1].

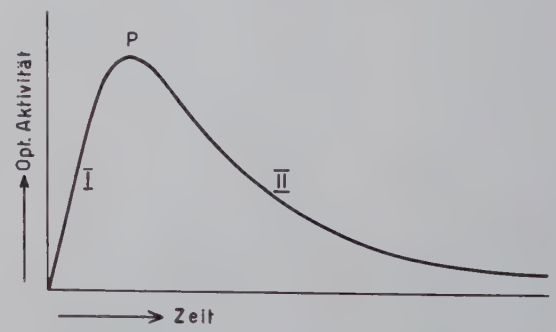


Abb. 1. Katalytische Synthese optisch aktiver Stoffe. Beobachtbare Aktivität als Funktion der Zeit bei andauernder Berührung von Reaktionsgut und Katalysator.

Nachdem wir festgestellt haben, dass bei Anwendung eines optisch aktiven Katalysators k_d grösser als

[1] W. Kuhn, Ergebn. Enzymforsch. *5*, 1 (1936); Z. angew. Chem. *49*, 215 (1936); Z. Altersforsch. *1*, 325 (1939).

[1] L. Rosenthaler, Biochem. Z. *26*, 1, 7 (1909); Arch. Pharm. *248*, 105 (1910). – K. Feist, Arch. Pharm. *247*, 226, 542 (1909); *248*, 101 (1910). – M. W. Bayliss, J. Physiol. *46*, 236 (1913). – E. Nordefeldt, Biochem. Z. *118*, 15 (1921); *131*, 390 (1923); *137*, 489 (1923); *159*, 1 (1925). – H. Albers und K. Hamann, Biochem. Z. *255*, 44 (1932).

k_l sein *kann*, verstehen wir, dass sich, wenn wirklich $k_d > k_l$ ist, das Gleichgewicht bei der Synthese aus den Ausgangsstoffen hinsichtlich der Bildung von *d*-Nitril *rascher* als hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril einstellt. Diese Phase des Reaktionsablaufs ist durch den zwischen den Punkten *O* und *P* verlaufenden Kurvenast I von Abbildung 1 wiedergegeben. In diesem Versuchsstadium (Kurvenast I von Abb. 1) erfolgt die chemisch gesehen *fast* vollständige Bildung von optisch nahezu reinem *d*-Nitril. Eine ganz geringe Bildung von *l*-Nitril findet insofern statt, als k_l *nicht absolut gleich O* ist.

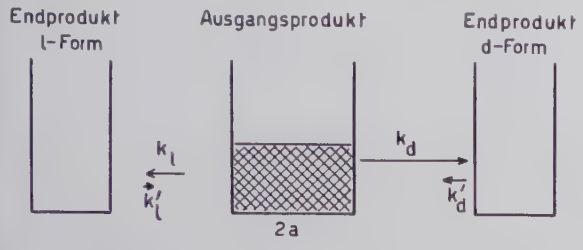


Abb. 2*a*. Ausgangslage bei optisch aktiver Synthese. Es ist Ausgangsprodukt vorhanden, jedoch noch keinerlei Endprodukt. Die Geschwindigkeitskonstanten für die Bildung der *d*-Form und der *l*-Form aus dem Ausgangsprodukt sind durch verschieden lange Pfeile k_d und k_l angedeutet, ebenso die Geschwindigkeitskonstanten für Rückbildung von Ausgangsprodukt aus dem Endprodukt durch die Pfeile k'_d und k'_l.

Den Ausgangszustand (entsprechend Koordinaten-Nullpunkt in Abb. 1) veranschaulichen wir in Abb. 2*a* dadurch, dass wir ein Gefäss, welches die Ausgangssubstanz enthält (in der Mitte) andeuten neben 2 zunächst leeren Gefässen, welche für die Aufnahme von *d*- und *l*-Nitril bestimmt sind. Nach dem Ablauf der ersten Reaktionsphase, also in dem Zeitpunkt, welcher dem Punkt *P* von Abbildung 1 entspricht, ist die Menge von vorhandenem Ausgangs- und Endprodukt durch Abbildung 2*b* angedeutet: das Ausgangsprodukt ist nahezu (aber nicht ganz vollständig) zu *d*-Nitril umgesetzt worden, während sich nur *sehr* wenig *l*-Nitril gebildet

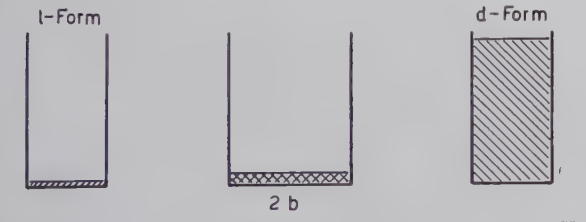


Abb. 2*b*. Ausgangs- und Endprodukt nach Durchlaufung von Kurventeil I von Abbildung 1, entsprechend Punkt *P* von Abbildung 1. Das Ausgangsprodukt ist *beinahe*, jedoch, weil die Gleichgewichtskonstante *K*, Gleichung (1), endlich ist, *nicht ganz* verschwunden. Aus dem Ausgangsprodukt hat sich, da k_d grösser als alle anderen in Frage kommenden Geschwindigkeitskonstanten ist, *fast nur* die *d*-Form gebildet.

hat. In diesem Zeitpunkt herrscht zwischen dem wenigen verbliebenen Ausgangsprodukt und dem entstandenen *d*-Nitril Gleichgewicht, indem sich (im Punkt *P* von Abb. 1) gemäss den Gleichgewichtskonstanten k_d und k'_d [Gleichung (1)] je Zeiteinheit gleichviel *d*-Nitril aus Ausgangsprodukten bildet, wie sich infolge der inversen Reaktion in die Ausgangsprodukte rückverwandelt. Während jetzt hinsichtlich *d*-Nitrils dynamisches Gleichgewicht herrscht, so ist zu erkennen, dass in dem in Abbildung 2*b* angedeuteten Versuchsstadium *kein* Gleichgewicht hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril aus dem in kleiner, aber endlicher Menge verbliebenen Ausgangsprodukt vorhanden ist. Da die Gleichgewichtskonstanten für die Bildung von *d*- und *l*-Nitril dieselben sind, wäre hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril nur dann Gleichgewicht vorhanden, wenn *l*-Nitril in gleicher Menge wie *d*-Nitril gebildet worden wäre. Da dies im Zustande nach Abbildung

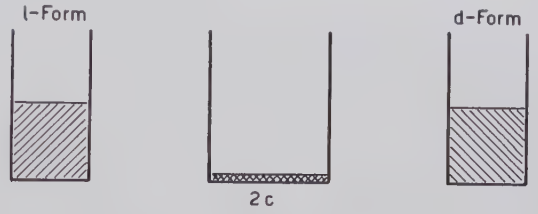


Abb. 2*c*. Endzustand, das heisst Zustand nach Erreichung des Gleichgewichtes hinsichtlich der Bildung von *d*- *und* *l*-Form aus dem Ausgangsprodukt. *d*- und *l*-Form liegen in je gleicher Menge neben einer geringen Menge des Ausgangsproduktes vor. Der Endzustand ist razemisch.

2*b* *nicht* der Fall ist, findet entsprechend der verbliebenen Konzentration der Ausgangsprodukte (mittleres Gefäss in Abbildung 2*b*) und entsprechend der zwar kleinen, aber endlichen Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_l ein langsamer Umsatz des Ausgangsproduktes zum *l*-Nitril statt. Offenbar wird durch diesen Vorgang ein Teil der zunächst verbliebenen Ausgangssubstanz *verbraucht*, so dass die Konzentration im mittleren Gefäss von Abbildung 2*b* absinkt. Das vorhanden gewesene Gleichgewicht mit *d*-Nitril wird dadurch gestört in dem Sinne, dass vorhandenes *d*-Nitril sich in die Ausgangsprodukte zurück umsetzen muss. In der nächsten Phase wird sich das so wieder entstandene Ausgangsprodukt nach Massgabe der Geschwindigkeitskonstante k_l zu *l*-Nitril umsetzen. Dieser Vorgang wird so lange andauern, bis das am Schluss vorhandene Ausgangsprodukt sowohl mit *d*- als auch mit l-Nitril im Gleichgewicht steht. Letzteres ist wegen der Identität der Gleichgewichtskonstanten dann der Fall, wenn die Menge an vorhandenem *d*- und *l*-Nitril dieselbe ist (Abb. 2*c*). Im Endzustand werden wir also gleiche Mengen an *d*- und *l*-Nitril, also ein Razemat, das die optische Drehung *O* besitzt, vorfinden. Der langsame Abfall der zu beobachtenden optischen Drehung des synthetisierten Nitrils ist durch den Kurvenast II von Abbildung 1 wiedergegeben.

Für die mit Hilfe eines optisch aktiven Katalysators bewirkte asymmetrische Synthese ist es somit *charakteristisch, dass zunächst nahezu vollständige Umsetzung des Ausgangsmaterials zu optisch nahezu reinem Endprodukt (d-Nitril) stattfindet, dass aber anschliessend ein Absinken des optischen Reinheitsgrades des Endproduktes stattfindet*, indem das zunächst gebildete,

nahezu reine *d*-Nitril auf dem Wege einer Rückverwandlung ins Ausgangsprodukt zu *l*-Nitril umgesetzt wird. Es ist charakteristisch, dass diese Umsetzung des *d*-Nitrils in *l*-Nitril *durch denselben optisch aktiven Katalysator*, welcher in der ersten Phase die *d*-Nitril-Synthese beschleunigt hatte, vermittelt wird, insofern als der Katalysator, welcher einen grossen Wert von k_d bewirkt, gemäss Gleichung (1) auch ein grosses k'_d erzeugt, also die Rückumwandlung des *d*-Nitrils in die Ausgangsprodukte beschleunigt. Wir stehen vor der merkwürdigen Tatsache, dass die Razemisierung des gebildeten *d*-Nitrils zum Teil wenigstens durch denselben Katalysator, welcher zunächst die Erzeugung von fast reinem optisch aktivem Stoff ermöglicht hatte, beschleunigt wird. Die beschriebene Razemisierung ist aber *unausweichlich*, und es ist die Bildung reiner, optisch aktiver Stoffe aus inaktivem Ausgangsmaterial mit Hilfe von optisch aktiven Katalysatoren ein *vorübergehender Effekt*.

Die *quantitativen Verhältnisse* werden in dem vorigen Beispiel sowie in ähnlichen Fällen durch die *Haltbarkeitsgleichung* wiedergegeben. Verstehen wir unter τ_{rac} die «*Razemisierungszeit*», genauer gesagt die Zeit, während welcher der Katalysator mit dem Substrat in Berührung bleiben muss, damit die optische Aktivität von ihrem Höchstwert (Punkt *P* in Abb. 1) auf etwa einen Drittel dieses Betrages absinkt, und unter τ_{akt} die *Aktivierungszeit*, das heisst die Zeit, innerhalb welcher sich etwa zwei Drittel der Ausgangssubstanz in das optisch fast reine Endprodukt umsetzen, und unter der *Haltbarkeit* des aktiven Zustandes den Quotienten aus τ_{rac} und τ_{akt}, so erhalten wir für die «Haltbarkeit» des aktiven Zustandes die Beziehung

$$H = \frac{\tau_{rac}}{\tau_{akt}} = \frac{1}{2}\frac{k_d}{k_l} K . \qquad (2)$$

Wäre entsprechend τ'_{rac} die Zeit, innerhalb welcher der optische Reinheitsgrad der synthetisierten Substanz von nahezu 100% auf den Wert α, zum Beispiel auf 99%, absinkt, so wäre die für das Absinken auf den Reinheitsgrad α charakteristische Haltbarkeit H' gegeben durch

$$H' = \frac{\tau'_{rac}}{\tau_{akt}} = g_\alpha \frac{k_d}{k_l} K , \qquad (2a)$$

wobei g_α eine für die Grenze α (zum Beispiel für $\alpha = 0{,}99$) charakteristische Konstante bedeutet.

Die Haltbarkeit des aktiven Reinheitsgrades (Zeit, innerhalb derer eine bestimmte Razemisierung eintritt, geteilt durch die für den Aufbau der optisch aktiven Substanz benötigte Zeit) ist also erstens proportional der Gleichgewichtskonstante *K*, welche chemisch gesehen die Umsetzung der inaktiven Ausgangsstoffe in die optisch aktiven Endprodukte regelt, und zweitens proportional der optischen Spezifität des Katalysators, welche im Verhältnis k_d/k_l zum Ausdruck kommt.

Wäre die Haltbarkeit *H* gleich unendlich, so könnten wir in einer bestimmten Zeit τ_{akt} die aktive Substanz am Katalysator erzeugen und dieselbe nachher für unbeschränkte Zeit im reinen aktiven Zustand erhalten. Hierzu wäre aber nach Gleichung (2) notwendig, dass entweder k_d/k_l, das heisst die optische Spezifität des Katalysators, oder aber *K*, das heisst die bei der Synthese obwaltende chemische Gleichgewichtskonstante, unendlich gross wäre. In Wirklichkeit ist bei allen chemischen Reaktionen die Gleichgewichtskonstante *K* endlich, weil einem unendlich grossen *K* eine unendlich grosse Bildungsaffinität entsprechen würde; aber auch die Selektivität k_d/k_l ist bei allen *in vitro* bekannten Reaktionen endlich. *Dies heisst, es wird wohl H recht gross, aber nicht unendlich gross werden, auch nicht bei den aktiven Synthesen im Organismus*[1].

Es ist interessant, dass die Gültigkeit der Haltbarkeitsgleichung im Falle der enzymatisch katalysierten Mandelsäurenitril-Synthese vor einiger Zeit von H. und E. ALBERS experimentell bestätigt werden konnte[2].

3. *Massnahmen zur Verzögerung der Razemisierung*

Wenn gemäss diesen Überlegungen die allmähliche Abnahme des optischen Reinheitsgrades der mit Hilfe eines optisch aktiven Katalysators erzeugten optisch aktiven Substanz *zwangsläufig* erfolgt, so gibt es doch verschiedene Massnahmen, durch welche die *Geschwindigkeit*, mit welcher die Abnahme des Reinheitsgrades erfolgt, herabgesetzt wird oder welche die Auswirkungen der Abnahme auf den Gesamtorganismus mildern und zeitlich hinausschieben. Es ist interessant, zu sehen, in wie ausgezeichneter Weise die sich bietenden Möglichkeiten vom Organismus ausgenützt werden.

a) *Wahl von K sowie von* k_d/k_l. Eine erste Massnahme zur Verzögerung der Razemisierung besteht gemäss der Haltbarkeitsgleichung (2) darin, dass bei den für die optische Aktivität wichtigsten Synthesen Reaktionen gewählt werden, *bei welchen K gross ist*, das heisst solche Reaktionen, bei welchen die Ausgangsprodukte, chemisch gesehen, praktisch genommen vollständig in die Endprodukte umgesetzt werden. Man stellt tatsächlich fest, dass die Reaktionen, bei denen im Organismus die Glukose oder die Aminosäuren gebildet werden, dem Typus der fast einseitig verlaufenden Reaktionen angehören.

Auch hinsichtlich k_d/k_l, welches ebenfalls einen hohen Wert besitzen soll, damit die Haltbarkeit *H* gross wird, stehen dem Organismus gute Möglichkeiten, aber voraussichtlich keine unendlich grossen Werte zur Verfügung.

b) *Baldiges Wegführen des Substrats vom Katalysator nach vollzogener Synthese.* Da die in Kurvenast II von

[1] Auf Grund von Angaben, die einer Arbeit von A. MEISTER, L. LEVINTOW, R. B. KINGSLEY und J. P. GREENSTEIN [J. Biol. Chem. *192*, 535 (1951)] entnommen werden können, wäre k_d/k_l für die Einwirkung von d-Aminosäureoxydase auf d- bzw. l-Alanin und d- bzw. l-Serin mindestens gleich 10^4. Für die obenerwähnte Mandelsäurenitrilsynthese mit Emulsin als Katalysator ist der Quotient mindestens 100mal kleiner, zu einem grossen Teil wohl deswegen, weil hier die unkatalysierte Reaktion schon eine messbare Geschwindigkeit besitzt.

[2] H. und E. ALBERS, Z. Naturforsch. *9b*, 122, 133 (1954).

Abbildung 1 erfolgende Razemisierung nach den Abbildungen 2*b* und 2*c* dadurch zustande kommt, dass bereits gebildetes *d*-Nitril unter Mitwirkung des Katalysators (Geschwindigkeitskonstante k'_d) in die Ausgangsprodukte zurückzerlegt wird, kann der Abfall der optischen Aktivität zu einem grossen Teil *verhindert* werden, wenn *die synthetisierte Substanz nach ihrer Entstehung vom Katalysator entfernt wird.* Wir wissen, dass diese Möglichkeit im Organismus tatsächlich in hohem Masse ausgenutzt wird. Die Enzyme finden sich im Organismus meist räumlich lokalisiert, an bestimmten Oberflächen verankert. Die synthetisierten Stoffe werden stets rasch der Wirkung des Katalysators entzogen, indem sie entweder chemisch weiterverarbeitet oder räumlich vom Katalysator entfernt werden. Es ist von Interesse, festzustellen, dass diese Massnahme, wenn wir sie als eine zur Aufrechterhaltung des optischen Reinheitsgrades und damit zur Aufrechterhaltung eines ungestörten Ablaufs der biochemischen Reaktionen *notwendige* Vorkehrung betrachten, den biochemischen Vorgängen von selbst und *zwangsläufig das Gepräge des Einmaligen, in bestimmtem Sinne Ablaufenden, die Eigentümlichkeit des nicht oder beschränkt Umkehrbaren aufzwingen.* Der Katalysator darf nicht unbeschränkt lange mit dem Substrat in Berührung bleiben: es ist wesentlich, dass in bestimmter Hinsicht das Gleichgewicht *nicht* abgewartet wird. Von Interesse ist es, *dass hier die Einmaligkeit und Einsinnigkeit des biochemischen Geschehens nicht eine von aussen gemachte Feststellung, sondern eine von innen heraus erwachsende Notwendigkeit ist.*

Bemerkung über weitere, den Charakter des Einsinnigen tragende Vorgänge im Organismus

Es ist interessant, dass es im Organismus ausser der katalytischen optisch aktiven Synthese weitere *einfache* Vorgänge gibt, welche den Charakter des Einmaligen, nicht Umkehrbaren tragen. Dazu gehört insbesondere der Vorgang der *Harnkonzentrierung in der Niere*[1]. Das ist ein Vorgang, welcher in einem *Haarnadelgegenstromsystem* erzielt wird. Es ist kennzeichnend, dass die in solchen Systemen hervorgebrachte Vervielfachung von Konzentriereffekten nur zustande kommt, wenn eine minimale Geschwindigkeit des Haarnadelstromes aufrecht erhalten bzw. überschritten wird.

Dass in den Organismen die beispielsweise bei der Verbrennung der Glukose freiwerdende Energie nicht auf einmal, sondern stufenweise umgesetzt wird, ist längst bekannt. Die Tatsache, dass es aber beim Ablauf der biochemischen Vorgänge Effekte gibt (optische Aktivität; Konzentriereffekte in der Niere), welche bei Unterschreitung einer untern Grenze der Geschwindigkeit des Ablaufs *überhaupt nicht mehr zustande kommen*, stellt Forderungen, welche über die der Einhaltung einer Reihenfolge von Reaktionsstufen hinausgehen. *Es ist die Forderung eines einsinnig gerichteten minimalen Grundumsatzes.* Diese Forderung an die Lebensvorgänge kann und muss also auf Grund *einfacher Vorgänge* gestellt werden.

c) *Elimination unerwünschter Antipoden.* Eine weitere Möglichkeit zur Erhaltung des optischen Reinheitsgrades besteht in einer *laufenden Entfernung* unerwünschter Antipoden. Es ist in diesem Zusammenhang bedeutungsvoll, dass in der Leber eine *d*-Aminosäure-Oxydase vorhanden ist, deren einzige Aufgabe darin zu bestehen scheint, die unerwünschten Antipoden der Aminosäuren (die *d*-Aminosäuren) laufend zu verbrennen[1]. Es ist auch denkbar, dass die unerwünschten Antipoden durch weitere Mechanismen unschädlich gemacht werden, so etwa durch Einbau unerwünschter Aminosäuren in die Epidermis oder ins Haar, also in Organe, in welchen eine Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades voraussichtlich wenig stören würde. Alle Ausscheidungsmechanismen dieser Art *wirken aber nur dann, wenn die unerwünschten Antipoden eine gewisse Konzentration erreicht haben.* Die Entfernung wird nie eine quantitative sein.

d) *Verlegung der wichtigen Lebensfunktionen in junges Gewebe.* Eine weitere Möglichkeit, die Auswirkung des Vorhandenseins der unerwünschten Antipoden einzudämmen, besteht darin, dass aus der Gesamtsubstanz des Organismus einzelne Bereiche ausgeschieden werden, in welchen der Reinheitsgrad grösser ist, als es dem Mittel des Gesamtorganismus entsprechen würde. So ist es bekanntlich möglich, aus einer Lösung, welche zum Beispiel *d*-Mandelsäure neben einer grösseren oder kleineren Menge von razemischer Mandelsäure enthält, durch fraktionierte Kristallisation kleine Mengen an reiner *d*-Mandelsäure zu erhalten. Im Rest der Lösung sinkt dann der mittlere Reinheitsgrad der dort vorhandenen aktiven Substanz entsprechend. In ähnlicher Weise wird es dem Organismus möglich sein, beispielsweise für die Keimzellen und für die Stellen, an welchen die enzymatischen Synthesen stattfinden, *ganz besonders reine* optisch aktive Substanz anzuwenden und zum Beispiel die Nachkommenschaft mit einwandfreier optisch aktiver Substanz auszustatten. Eine in diesem Sinne geeignete Massnahme besteht darin, dass die besonders lebenswichtigen Funktionen in frisch erzeugte Zellen verlegt werden. Es scheint, dass der Organismus auch von dieser Möglichkeit weitgehend Gebrauch macht. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, dass zum Beispiel die Blutkörperchen im Mittel nach etwa 4 Wochen erneuert werden.

Wie erwähnt, wird dadurch, dass an bestimmten Stellen des Organismus besonders *reine* aktive Substanz zur Ausscheidung gelangt, der Reinheitsgrad *im Rest des Organismus heruntergesetzt*, und die im Mittel

[1] B. Hargitay und W. Kuhn, Z. Elektrochem. u. angew. physikal. Chem. *55*, 539 (1951). – H. Wirz, B. Hargitay und W. Kuhn, Helv. physiol. acta *9*, 196 (1951); siehe auch W. Kuhn und R. Ryffel, Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. *276*, 146 (1942).

[1] H. A. Krebs, Z. physiol. Chem. *217*, 191 (1933); Biochem. I *29*, 1620 (1935).

fortschreitende Abnahme des Reinheitsgrades ist damit nicht behoben. Der Chemiker beseitigt Lösungen wie zum Beispiel Mutterlaugen, in denen sich zu viel Verunreinigungen angesammelt haben. Dem Organismus ist das nicht oder nur beschränkt möglich, da er, etwa nach Bereitstellung von Keimzellen, nicht die ganze verbleibende Substanz verloren geben kann. Die unter c erwähnte Elimination unerwünschter Antipoden ist daher für den Organismus aktuell und notwendig.

4. *Mögliche Beziehung der Haltbarkeitsgleichung zur Lebensdauer des Individuums*

Die in Abschnitt 3 erwähnte Massnahme zur Verzögerung des Auftretens unerwünschter Antipoden kann die Bildung und die allmähliche Zunahme der Menge derselben im Organismus nicht völlig verhindern.

Die Möglichkeit der Verlegung lebenswichtiger Funktionen in junges Gewebe zeigt auch, dass die Bildung kleiner Mengen unerwünschter Antipoden noch nicht gleichbedeutend ist mit dem Auftreten derselben an den entscheidend wichtigen Stellen des Organismus. Man erkennt aber, dass die allmähliche Abnahme des mittleren Reinheitsgrades der optisch aktiven Substanz schliesslich *doch* das Eindringen unerwünschter Antipoden an die Schlüsselstellungen des Stoffwechsels zur Folge haben muss. Man sieht ferner, dass, sobald die Reinheit der in den Schlüsselstellungen, zum Beispiel in den synthetisierenden Enzymen, vorhandenen aktiven Substanz gelitten hat, die optische Spezifität der Synthese leiden wird und dass es dadurch, wenn die Verunreinigung ein gewisses Mass überschritten hat, zu einem raschen Zusammenbruch des optischen Reinheitsgrades kommen wird.

Wir haben in Abschnitt 1 gesehen, dass eine Abnahme des optischen Reinheitsgrades Störungen im Ablauf der biochemischen Reaktionen im Organismus zur Folge haben *muss*. Es ist in diesem Sinne möglich, dass die Lebensdauer des Individuums durch die Einbusse des optischen Reinheitsgrades bestimmter, besonders wichtiger Aufbausubstanzen[1] begrenzt wird. Nehmen wir in diesem Sinne an, dass die Begrenzung der Lebensdauer erreicht ist, sobald der Reinheitsgrad der wichtigsten optisch aktiven Substanzen von 100% auf einen bestimmten Betrag, etwa auf α abgesunken ist, wobei die Grösse α an der Grenze oder sogar jenseits der Grenze der derzeitigen Nachweisbarkeit liegen kann. Es muss dann die Lebensdauer des Individuums ungefähr gleich der in Gleichung (2a) definierten Zeit τ'_{rac} und damit gleich $\tau_{akt}\, g_\alpha\, (k_d/k_l)\, K$ sein. τ_{akt} war die Zeit, welche bei der optisch aktiven Synthese für den Aufbau der aktiven Substanz benötigt wird. Beim Organismus können wir τ_{akt} irgendwie proportional zur Wachstumszeit des Individuums setzen. Falls die Substanzen, deren optischer Reinheitsgrad die Lebensdauer limitiert, und falls auch die Reaktionen, durch welche diese Substanzen gebildet werden, bei verschiedenen Organismen übereinstimmen, wären g_α, k_d, k_l, K in Gleichung (2a) für die verschiedenen Organismen annähernd gleich. Im Sinne von Gleichung (2a) wäre dann zu erwarten, dass der Quotient

$$\frac{\text{Lebenszeit}}{\text{Wachstumszeit}} = \text{const } H = C \qquad (3)$$

für Individuen verschiedener Art einigermassen übereinstimmt. Es ist bekannt, dass letzteres in grober Näherung zutrifft. Diese biologische Regel könnte somit eine Folge der kinetischen Gesetze sein, welche die katalytische Erzeugung optisch aktiver Stoffe und die Haltbarkeit des Reinheitsgrades der so erhaltenen Substanzen beherrschen.

Auch die von Rubner[1] gefundene Regel, wonach die Zahl der je Kilogramm Körpergewicht während des gesamten Lebens eines Individuums umgesetzten Kalorien für Individuen verschiedener Art *ungefähr* übereinstimmt, dürfte dem in der Haltbarkeitsgleichung niedergelegten Sachverhalt entsprechen: die Lebensdauer ist klein, wenn der Stoffwechsel intensiv und damit die für den Aufbau der aktiven Substanzen verwendete Zeit kurz ist, und umgekehrt.

5. *Versuche zum Nachweis eines beschränkten optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen von Organismen*

Die Frage nach den Grenzen des optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen von Organismen muss grundsätzlich *experimentell* entschieden werden, ebenso die Frage, ob die auf Grund der theoretischen Betrachtungen zu erwartende Abnahme des Reinheitsgrades tatsächlich auftritt und ob sie wirklich ein die Lebensdauer der Individuen limitierender Faktor ist. Schon 3 Jahre nach dem erstmaligen Erscheinen der vorstehenden kinetischen Betrachtungen erschien eine Anzahl Arbeiten von Kögl und Mitarbeitern[2], nach welchen im Tumoreiweiss neben der üblichen L-Form auch die D-Form der Glutaminsäure vorkommt und wonach die Malignität der Tumoren mit dem Vorkommen der unerwünschten Antipoden im Zusammen-

[1] Eine Einbusse an optischem Reinheitsgrad braucht sich nicht bei allen Aufbausubstanzen gleich stark auszuwirken. Ausserdem ist gezeigt worden, dass gewisse Aufbausubstanzen des Organismus stereoautonom, das heisst in ihrem optischen Reinheitsgrad vom Reinheitsgrad fremder Begleitsubstanzen unabhängig sind, während der Reinheitsgrad anderer, nämlich der stereo-stabilisierten Substanzen, auf dem Wege der Bildung diastereomerer Verbindungen durch die stereo-autonomen Substanzen gewährleistet wird. Für Einzelheiten kann auf die zitierten Arbeiten verwiesen werden.

[1] M. Rubner, *Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehung zu Wachstum und Ernährung* (Verlag R. Oldenbourg, München und Berlin 1908). Siehe auch M. Bürger, *Altern und Krankheit*, 2. Aufl. (Verlag G. Thieme, Leipzig 1954), insbes. S. 9.

[2] F. Kögl, Klin. Wschr. *1939*, 1, 801; Exper. *5*, 173 (1949). – F. Kögl und H. Erxleben, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *258*, 57, 154 (1939); Naturwissenschaften *27*, 486 (1939). – F. Kögl, H. Erxleben und A. M. Akkermann, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *261*, 141 (1939). – F. Kögl, H. Erxleben und G. J. van Veersen, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *277*, 251 (1943). – F. Kögl, H. Herken und H. Erxleben, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *264*, 108, 220 (1940).

hang stehen soll. Dem experimentellen Befund ist von verschiedener Seite widersprochen worden[1].

Unabhängig von solchen Versuchen, eine bestimmte Krankheitserscheinung mit dem Abfall des optischen Reinheitsgrades in Zusammenhang zu bringen, haben wir uns, ebenfalls im Anschluss an die kinetischen Betrachtungen, bemüht, die Grenzen des optischen Reinheitsgrades von Aminosäuren, welche in mehr oder weniger normalem Eiweiss vorkommen, festzustellen bzw. aufzufinden. Da der Reinheitsgrad der in den Organismen vorkommenden optisch aktiven Substanzen hoch ist, sind die Messungen schwierig. Bisher haben wir erst eine Methode zur Feststellung sehr kleiner Mengen von *d*-Leucin neben grossen Mengen des natürlich vorkommenden *l*-Leucins (Formel I) ausgearbeitet[2], und wir haben sie auf eine Reihe von natürlichen Eiweißstoffen angewendet[3].

Auf Grund der Erwägung, dass eine Ausscheidung in den Haaren eine Möglichkeit zur Beseitigung des unerwünschten Antipoden sein könnte, wurden zunächst die Schweifhaare von einer Anzahl von Pferden verschiedenen Alters, später aber auch der Huf eines 35jährigen Elefanten, ein Jensen-Sarkom von Mäusen sowie Kasein aus Milch auf das Vorhandensein von «unnatürlichem» *d*-Leucin geprüft. Die Ergebnisse, von denen ein Teil in Zusammenarbeit mit K. Weil (l.c.), ein anderer Teil in Zusammenarbeit mit K. Vogler (noch unveröffentlicht) erhalten wurden, sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Prozentgehalt des im Eiweiss vorhandenen Leucins an d-(−)-Leucin

Etwa 30jähriges Pferd	3,3 %
7jähriges Pferd	0 %
24jähriges Pferd	1,6 %
39jähriges Pferd	0 %
4jähriges Pferd	3 %
9jähriges Pferd	3,5 %
18jähriges Pferd	0 %
Elefantenhuf, 35jährig	0 %
Jensen-Sarkom-Mäuse	3 %
Kasein aus Milch	0 %

Die Zahlenwerte der Tabelle zeigen, dass der «falsche» Antipode von Leucin in verschiedenen Fällen tatsächlich gefunden wurde. Der Antipode wurde in Form des Salzes des d-(−)-Leucinmethylesters mit (−)-dioxydinaphtyldikarbonsäure (siehe Abschnitt 1) in Substanz isoliert und gewogen, so dass am Vorhandensein dieses Antipoden nicht zu zweifeln ist. Anderseits zeigt es sich, dass ein Zusammenhang der Menge des vorhandenen *d*-Leucins mit dem Alter der Individuen auf Grund der Zahlenwerte der Tabelle nicht bewiesen, aber auch nicht ausgeschlossen werden kann.

[1] A. C. Chibnall, M. W. Rees, E. F. Williams und E. Boyland, Biochem. J. *34*, 285 (1940). – Th. Wieland und W. Paul [B] *77*, 34 (1944). – D. Rittenberg und D. Shemin, Ann. Rev. *15*, 250 (1946). – G. R. Tristram, Biochem. Soc. Symp. Nr. 1, S. 33 (1948).

[2] K. Weil und W. Kuhn, Helv. chim. Acta *29*, 784 (1946).

[3] K. Weil und W. Kuhn, Helv. chim. Acta *27*, 648 (1944).

Es scheint, dass durch neuere Versuche von Hillmann und Mitarbeitern[1] der Nachweis von kleinen Mengen von *d*-Glutaminsäure ebenfalls sichergestellt ist. Nach diesen Versuchen können kleine Mengen von *d*-Glutaminsäure bei Ratten nach Verfütterung normaler pflanzlicher und tierischer Proteine nachgewiesen werden, während, in Bestätigung eines von Kögl angegebenen Befundes grössere Mengen dieser *d*-Aminosäure nach Verfütterung von Lebermetastasen an die Versuchstiere auftreten. Auch die Analyse des Harns von hungernden Ratten ergibt nach Hillmann und Mitarbeitern das Auftreten von *d*-Glutaminsäure.

Wenn es hiernach möglich ist, bei einigen Aminosäuren die Grenze des optischen Reinheitsgrades unter mehr oder weniger normalen Bedingungen festzustellen, so stehen wir vor weittragenden neuen Möglichkeiten. Es wäre allerdings, auch im Falle des Leucins, erwünscht, ein verfeinertes und wenn irgend möglich *rascheres* Messverfahren als das bisher von uns angewendete zu finden. Es wäre auch für die Klärung der angeschnittenen Fragen wichtig, nicht nur eine grössere Anzahl von Individuen, sondern bei jedem Individuum auch verschiedene Organe zu untersuchen. Das letztere wäre deswegen notwendig, weil Unterschiede im Reinheitsgrad der optisch aktiven Substanzen innerhalb des selben Individuums zu erwarten sind. Ebenso wäre es interessant, nicht nur den Reinheitsgrad des Leucins und der Glutaminsäure, sondern auch anderer, für den Organismus wesentlicher optisch aktiver Verbindungen in den Kreis der Betrachtungen zu ziehen.

Summary

The solubilities and other properties of compounds made by combination of optically active components, e.g. the solubilities of the salts made from the dextro-form of an acid and the dextro- or the laevo-form of a base are in some instances *extremely different*. It is a consequence of these differences that in a living organism, containing optically active substance, *the degree of optical purity* of these substances is of outmost importance. The presence of "undesired" antipodes of any kind might fundamentally disturb the metabolism. It is also known that living organisms at least partly and continuously produce the optically active substances needed by *synthesis from optically inactive material.*

A kinetical and thermodynamical study of the conditions under which optically active substances can, with use of optically active catalysers, be synthetized from inactive material, shows that the degree of optical purity of the material synthetized is, even under the most favorable conditions, maximum in the beginning of the synthesis and *is bound to decay when the synthesis is*, chemically speaking, *completed and if the synthetized material is left in contact with the catalyzer.* Thus a racemization of the synthetized active material occurs in which the catalyzer which has originally produced this active substance actively accelerates the deterioration of its state of optical purity.

[1] G. Hillmann, A. Hillmann-Elies und F. Methfessel, Z. Naturforsch. *9b*, 660 (1954).

The means are discussed by which the organism is able to delay this loss of optical purity; and it is shown that all possible means to do so are indeed used by the organism. As these means can delay but never completely avoid the decay of optical purity, this decay, even if it be slow, i.e. *an ageing of optical purity, is a necessity in the course of the life* of a living organism. As a loss of optical purity must disturb the normal metabolism, this must, even if no other events occur, limit the individual life.

Experimental evidence which would check the prediction of a decay of optical purity with age is incomplete; in several instances, however, the experimental technique permits us to detect and to follow the occurrence of finite small amounts of "undesired" antipodes, e.g. of some amino acids in the proteins of living organisms.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Radical Yields in X-Irradiated Aqueous Solutions

The chemical effects of high energy radiations in aqueous systems are interpreted as due largely to the ultimate formation of the species H and HO. The yields of these products per unit of energy absorbed (= G per 100 e.v.) can in principle be obtained by measuring the extent of oxidation or reduction of suitable solutes. However, with most solutes the products of reduction by H may be re-oxidized by HO· and *vice-versa*, so that to measure the total amount of H and HO· it is necessary to use a solute with which both react *entirely* to give measurable products. Formic acid[1] and hydrogen peroxide[2] have been used to this end.

We find that the effect of both radicals can be measured in solutions containing certain oxidizable organic compounds together with Cu^{2+} and/or Fe^{3+}. In general a molecule RH will be oxidized to R·:

$$RH + HO^{\cdot} \rightarrow R^{\cdot} + H_2O$$

It has been shown[3] that Fe^{3+} (and more efficiently Cu^{2+}) will oxidize both organic radicals:

$$R^{\cdot} + H_2O + Fe^{3+} \rightarrow ROH + Fe^{2+} + H^{+}$$

and hydrogen atoms[4] $H + Fe^{3+} \rightarrow H^{+} + Fe^{2+}$. Provided the concentrations of RH and Fe^{3+} are sufficiently high to eliminate all reactions of R·, H and HO· other than those above, then the Fe^{2+} formed will equal the sum of the H and HO· produced initially, i.e. $G_{Fe^{2+}} = G_H + G_{HO}$. The fact that hydrogen peroxide is usually produced does not affect this conclusion since it reacts with Fe^{2+} to give HO· which, by the above reactions, regenerates Fe^{2+}. Hence the only change is in the amount of RH oxidized.

A criterion that all HO·, H and R· does in fact react with RH or Fe^{3+} is that ultimately, at sufficiently high [RH] and [Fe^{3+}], $G_{Fe^{2+}}$ should become constant. The following values of $G_{Fe^{2+}}$ were obtained when deaerated solutions containing 0·1 N H_2SO_4, 5×10^{-4} M Fe^{3+}, 2×10^{-3} M Cu^{2+} and the organic compound were irradiated with 190 kV X-rays at about 700 r/min (based on 15·6 for the Fricke dosimeter).

Table I

Compound	Concentration M	$G_{Fe^{2+}}$
Ethyl Alcohol	0·07	5·5
Methyl Alcohol	0·10	5·5
Formic Acid	0·10	5·4
Ether	0·10	5·6
Ethyl Acetate	0·06	5·6
Benzene	0·01	5·5

These yields were obtained with low doses so that the Fe^{2+} did not exceed ca. 10^{-4} M. The same values of

Table II

Compound	Concentration $M \times 10^2$	$10^3[Cu^{2+}]$	$G_{Fe^{2+}}$
Acetic Acid	5·0	2·0	2·4
	2·5	2·0	2·5
	5·0	5·0	3·3
Acetone	13	2·0	0·44
	26	2·0	0·61
	13	5·0	0·89
Succinic Acid	12	2·0	3·7
	24	2·0	3·7
	12	5·0	5·0
Triethylamine	3·0	2·0	3·2
	6·0	2·0	3·8
	3·0	5·0	4·0
Methacrylic Acid	4·0	5·0	1·7
	2·0	5·0	1·3
	4·0	2·0	1·3
Urea	7·0	5·0	1·4
	3·5	5·0	1·1
	7·0	2·0	0·9

[1] E. J. HART, J. Amer. chem. Soc. *76*, 4198 (1954).
[2] F. S. DAINTON and J. ROWBOTTOM, Trans. Faraday Soc. *49*, 1160 (1953).
[3] J. H. BAXENDALE and J. MAGEE, Trans. Faraday Soc. *51*, 205 (1955).
[4] J. H. BAXENDALE and D. SMITHIES, J. chem. Phys. *23*, 604 (1955).

$G_{Fe^{2+}}$ were obtained with twice the above solute concentrations or with 5×10^{-3} *M* Cu^{2+}. With other compounds changes in these concentrations alter $G_{Fe^{2+}}$ as shown in Table II.

These yields are invariably lower, indicating that the Cu^{2+} and/or the organic compound concentrations are not high enough to react with all the intermediates. It is possible that in some cases the Fe^{2+} produced may compete with *R*H for HO· or with Fe^{3+} or Cu^{2+} for *R*·[1], and probably accounts for the equilibria previously reported on similar systems[2]. These complications must be absent in the first group of compounds since we find the yields independent both of the dose and of Fe^{2+} added initially. Hence we conclude that here $G_{Fe^{2+}}$ is a measure of $G_H + G_{HO}$ and is 5·5 in these conditions.

J. H. Baxendale and D. Smithies

Chemistry Department, University of Manchester, June 17, 1955.

Résumé

La valeur de $G_H + G_{OH}$ peut être obtenue en utilisant des solutions aqueuses de certains composés organiques contenant Cu^{2+} et/ou Fe^{3+}. Les ions métalliques sont réduits par H et par les radicaux produits par l'oxydation des composés organiques par OH. A concentration convenable des réactifs, on a: $G_{Fe^{2+}} = G_H + G_{OH}$.

[1] J. H. Baxendale and J. Magee, Trans. Faraday Soc. *51*, 205 (1955).

[2] C. Vermeil and M. Cottin, J. chem. Phys. *51*, 24 (1954).

Action d'une dose unique de rayons X, administrée en irradiation totale ou locale, sur les acides nucléiques de la moelle osseuse chez le rat blanc[1]

Au cours de recherches antérieures, nous avons constaté que pour une même dose de rayons X et pour une même zône cutanée la réduction de l'activité hexokinasique de la peau était plus considérable après une irradiation corporelle totale qu'à la suite d'une irradiation locale[2]. De même avons-nous noté que la diminution du phosphore acido-soluble total, de l'A.T.P. et du phosphagène de la peau est plus importante après une irradiation de l'animal total que dans l'irradiation locale toujours pour une même dose de rayons *X*[3].

Devant ces faits, il nous a paru intéressant de rechercher si dans le cas des cellules de la moelle osseuse particulièrement sensibles au rayonnement l'irradiation corporelle totale provoque également des effets plus accusés que l'irradiation locale. Afin d'apprécier quantitativement l'action des rayons *X* sur la moelle, nous avons étudié comme par le passé[4] l'évolution des acides pentose- et désoxypentosenucléiques (APN. et ADN.) qui fournissent respectivement les indications essentielles sur la masse cytoplasmique et la masse nucléaire.

Nos essais ont porté sur un total de 100 rats blancs de souche Wistar d'un poids variant entre 180 et 300 g. Ces animaux issus d'une souche rigoureusement homogène étaient groupés en lots du même sexe et d'une même portée pour chaque expérience. Dans une première série d'essais qui portait sur un total de 76 rats, 40 animaux ont subi une irradiation totale de 700 r en dose unique (Tension: 180 kV. Filtre: 1 Cu. Distance foyer–rat: 45 cm. Débit: 25 r par minute). 36 autres sujets ont servi comme témoins. Dans une deuxième série d'expériences, 24 animaux ont subi une irradiation identique (Tension: 172 kV. Sans filtre. Distance foyer–rat: 45 cm. Débit: 200 r par minute), mais sur les membres gauches seulement, le corps de l'animal ayant été protégé contre les rayons X par un revêtement en plomb. Les membres droits du même sujet servaient de témoins pour apprécier l'effet des rayons. Les animaux ont été sacrifiés par saignée à des intervalles s'étendant de 2 à 21 jours après l'irradiation. Les os longs des membres postérieurs ont été prélevés rapidement et portés à moins 30 degrés. Une fois congelés, les os ont été fendus longitudinalement et les fragments mis dans de l'acide trichloracétique à 7 % glacé. La moelle qui coagule rapidement dans ces conditions, a été ensuite séparée des os, puis lavée trois fois à l'acide trichloracétique à 7 %, l'eau et l'alcool et enfin délipidée par un traitement à l'alcool et l'éther bouillants. Les acides nucléiques ont été déterminés après séparation selon la technique de Schmidt et Thannhauser[1] par le dosage des pentoses selon Bial et Mejbaum[2] et des bases puriques et pyrimidiques par absorption dans l'ultraviolet à 2600 Å pour l'APN., par la détermination du phosphore selon Briggs[3] et des désoxypentoses selon Dische[4] pour l'ADN. Afin d'éviter les erreurs d'interprétation que peuvent induire les déterminations des teneurs en acides nucléiques quand les autres constituants des tissus varient également, nous avons retenu les chiffres correspondant aux quantités absolues d'acides nucléiques de la moelle des os longs. Nous nous sommes assurés antérieurement que la quantité absolue en acides nucléiques d'un groupe d'os longs chez des animaux du même sexe, d'une même portée issus de notre souche, est très voisine, et qu'il en est de même pour les pattes droites et gauches d'un même animal.

Les résultats de nos essais sont consignés dans les Figures 1 et 2.

Action d'une dose unique de rayons X sur les acides nucléiques de la moelle osseuse (700 r).

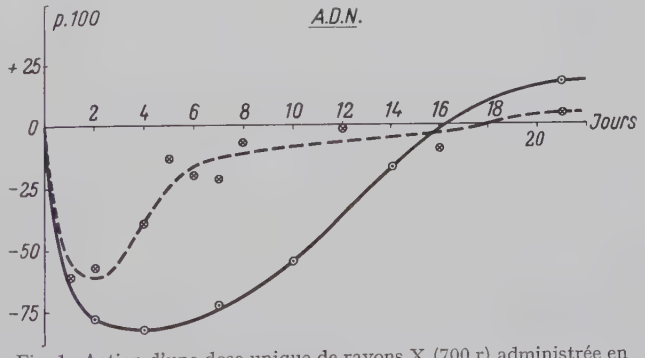


Fig. 1. Action d'une dose unique de rayons X (700 r) administrée en irradiation totale et locale sur les *acides désoxyribonucléiques* (ADN.) de la moelle osseuse des membres postérieurs chez le rat. Résultats exprimés en pour-cent des valeurs témoins.

- - - - - - Irradiation unilatérale —— Irradiation corporelle totale

[1] Travail effectué avec le concours matériel de l'Institut National d'Hygiène.

[2] P. Mandel et J. Rodesch, J. Physiol. *47*, 234 (1955).

[3] J. Rodesch et P. Mandel, C. r. Soc. Biol. (1955), sous presse.

[4] P. Mandel et J. Rodesch, Symposium de Radiobiologie (Liège 1954). – P. Mandel, P. Metais, Ch. M. Gros et R. Voegtlin, C. r. Acad. Sci. *233*, 1685 (1951).

[1] G. Schmidt et S. J. Thannhauser, J. biol. Chem. *161*, 83 (1945).

[2] W. Mejbaum, Z. physiol. Chem. *258*, 117 (1939).

[3] A. P. Briggs, J. biol. Chem. *53*, 13 (1922).

[4] Z. Dische, Microchem. *2*, 4 (1930).

Action d'une dose unique de rayons X sur les acides nucléiques de la moelle osseuse (700 r).

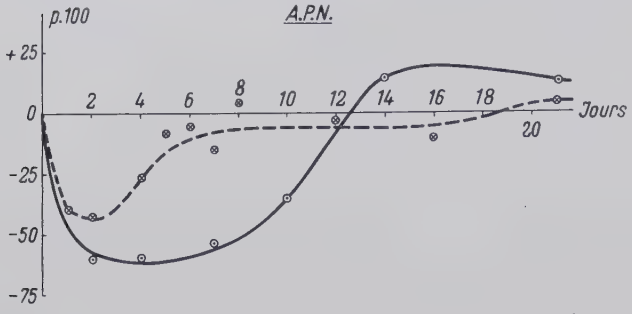


Fig. 2. Action d'une dose unique de rayons X (700 r) administrée en irradiation totale et locale sur les *acides ribonucléiques* (ARN.) de la moelle osseuse des membres postérieurs chez le rat. Résultats exprimés en pour-cent des valeurs témoins.

------ Irradiation unilatérale —— Irradiation corporelle totale

La Figure 1 présente l'évolution de la quantité absolue de l'ADN. de la moelle osseuse des membres postérieurs après irradiation soit de l'animal total, soit des membres gauches seulement. On notera que la réduction de l'ADN. est bien plus accusée dans le cas de l'irradiation corporelle totale puisqu'elle peut atteindre en moyenne — 75 %, alors qu'après irradiation locale, la réduction ne dépasse pas — 60 %. De plus, le retour à la normale est beaucoup plus rapide après irradiation locale.

La Figure 2 représente les modifications subies par l'APN. dans les mêmes conditions expérimentales. Là encore, nous notons en moyenne une réduction de — 60 % après l'irradiation corporelle totale, pour une diminution de — 45 % seulement dans le cas de l'irradiation locale. L'appauvrissement de la moelle en APN. est également de plus longue durée après une irradiation corporelle totale.

Les modifications que nous venons de décrire prouvent que la réduction de l'activité de la moelle, à savoir de la prolifération nucléaire que reflète l'ADN. et des synthèses cytoplasmiques qu'indique l'APN., est bien plus importante quand le corps entier est irradié. Il convient donc d'admettre que, même pour des tissus très sensibles aux rayons X, ce n'est pas seulement l'action directe des rayons qui en est cause mais qu'il existe des effets secondaires consécutifs à l'irradiation corporelle totale; ces effets contribuent à aggraver considérablement la destruction de la moelle et à retarder sa régénérescence.

J. Rodesch, Mlle C. Jaudel,
B. Chirpaz et P. Mandel

Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, Strasbourg, le 15 août 1955.

Summary

The biochemical effects on bone marrow of a same dose of X rays (700 r) induced by a total body irradiation or a local irradiation are compared. The ribonucleic acid and the desoxyribonucleic acid of bone marrow show a fall during days 2 to 14 after irradiation, followed by complete recovery on day 21. A significant difference is noted during this period between animals exposed to a total or local irradiation system. The changes consecutive to X rays induced by a total irradiation are prominenter and remain longer than in local irradiation. The direct effect of X rays is probably associated with secondary injury of physiological connexions or other substances affected in total body irradiation.

The Nature of Brdička's Cancer Test

Brdička[1] studied catalytic polarographic waves produced by adding denatured blood serum to an ammoniacal cobalt solution. He found that the catalytic wave was lower for carcinoma serum than for normal serum. On treating the serum with sulphosalicylic acid (S.S.A.) as a deproteinating agent, the catalytic wave of the filtrate was higher for cancerous serum than for normal serum[2]. This last phenomenon has been used in cancer diagnosis[3] but the test is also sometimes positive with sera from patients with high fevers. There have been suggestions[4] that the substance responsible for the catalytic wave of the S.S.A. filtrate is of mucoid nature.

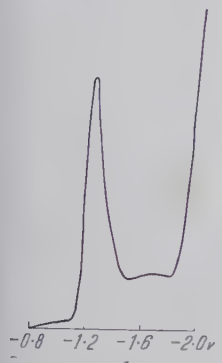
We have isolated the substance responsible for the Brdička filtrate reaction by dialysis of the S.S.A. filtrate of cancer sera, followed by alcohol fractionation according to the procedure of Meyer[5]. This substance, the "cancer substance", is a white powder, and it gives catalytic waves in the Brdička test solution identical with those given by the S.S.A. filtrates from cancerous serum. For comparison with a known mucoprotein, we prepared ovomucoid from egg white using Fredericq and Deutsch's[6] method. When the ovomucoid was added to the Brdička test solution, it gave a catalytic wave identical with those given by the "cancer substance" and the S.S.A. filtrates.

The "cancer substance" and ovomucoid were then partially hydrolysed to liberate the sugars only. Paper chromatographic analysis of the hydrolysates showed that both "cancer substance" and ovomucoid contained the same sugars–galactose, mannose, and glucosamine. Complete hydrolysis of the "cancer substance" and ovomucoid, followed by paper chromatography of the hydrolysates, showed that both substances contained the same amino acids in so far as these could be identified. A quantitative estimation of cystein was made by Sullivan's[7] method, giving 3·4 % cystein in ovomucoid and 4·12 % cystein in the "cancer substance". Young[8] reports 3·95 % ovomucoid and Fredericq and Deutsch[6] 6·7 %. These determinations confirm that the "cancer substance" is a mucoprotein.

Mehl and co-workers[9] observed that mucoprotein levels in normal blood are in general lower than those in cancerous blood. They isolated the mucoproteins from normal blood and found on electrophoresis that the mucoprotein fraction consisted of at least 3 components. They prepared an electrophoretically homogeneous fraction by ammonium sulphate fractionation[10]. Through the kindness of Dr. Mehl, we have examined a sample of his mucoprotein and find it also to contein galactose, mannose and glucosamine. We also found that in the Brdička test solution the catalytic wave of Mehl's mucoprotein and the "cancer substance" are qualitatively and quantitatively identical. On the other hand, the catalytic wave of ovomucoid is identical with the

1 R. Brdička, Nature *139*, 330, 1020 (1937).
2 R. Brdička, Klin. Wschr. *18*, 205 (1939).
3 R. Brdička, Research *1*, 1 (1947).
4 P. Meyer-Heck, Z. Krebsforsch. *49*, 142, 560 (1939).
5 K. Meyer, Z. physiol. Chem. *275*, 16 (1942). – C. B. Huggins, 1st Conference of Cancer Diagn. Tests *7*, (1950).
6 E. Fredericq and H. F. Deutsch, J. biol. Chem. *181*, 499 (1949).
7 M. X. Sullivan, U. S. Public Health Rep. *41*, 1030 (1926).
8 E. G. Young, J. biol. Chem. *120*, 1 (1937).
9 J. W. Mehl, J. Clin. Invest. *27*, 617 (1945).
10 J. W. Mehl, H. Henry, E. Weimer, and Richard H. Weizler, J. biol. Chem. *185*, 561 (1950).

wave produced by ten times greater quantities of MEHL's mucoprotein or the "cancer substance". The "cancer substance" and MEHL's mucoprotein show practically identical electrophoretic patterns.

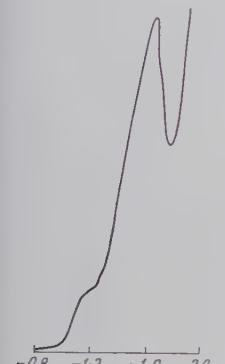


1

5 ml Brdička test solution
Sensitivity × 200.

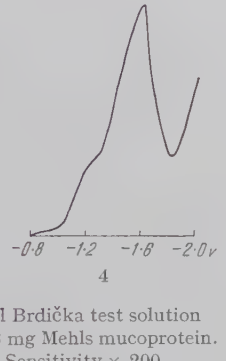
2

5 ml Brdička test solution
+ 0·1 mg ovomucoid
Sensitivity × 200.



3

5 ml Brdička test solution
+ 1 mg cancer substance
Sensitivity × 200.



4

5 ml Brdička test solution
+ 0·8 mg Mehls mucoprotein.
Sensitivity × 200.

It has thus been demonstrated that the substance responsible for the BRDIČKA reaction is a mucoprotein very similar if not identical with MEHL's mucoprotein, which is a component of normal blood. This suggests that BRDIČKA's reaction indicates an increase in the level of normal mucoproteins in the blood and not the presence of a new substance which is absent in the blood of healthy subjects.

The authors thank Dr. J. W. MEHL of the University of Southern California for a sample of mucoprotein, Dr. H. H. MACKINNON of the Victoria Public Hospital, Fredericton, for samples of cancer sera, and also Dr. A. SEHON and Mr. KENNEDY of McGill University for carrying out electrophoretic measurements.

MARY WHEATLEY and Z. VALENTA

Chemistry Laboratory University of New Brunswick, Fredericton, Canada, July 11, 1955.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, dass die Brdičkasche Filtratreaktion durch eine Erhöhung der Konzentration des normalerweise im Serum vorkommenden Mucoproteins verursacht wird. Dieses Mucoprotein enthält Cystein, so dass keine Modifikation der ursprünglichen Interpretierung der Reaktion durch BRDIČKA erforderlich scheint.

Acid-soluble Nucleotide Derivatives in Cell Nuclei Isolated in a Non-aqueous Medium

In recent studies on the composition of cell nuclei isolated by non-aqueous procedures (KAY, SMELLIE, HUMPHREY, and DAVIDSON[1]) it has been shown that considerable amounts of material are removed from such nuclei when they are extracted with dilute citric acid. This extractable material includes some of the nuclear protein and a considerable proportion of the nuclear ribonucleic acid (RNA) together with other acid-soluble substances including simple nucleotides. The presence of acid soluble nucleotides and related nucleosides and free bases is of considerable interest inasmuch as they are likely to be connected in some way with the metabolic role of the nucleus. In this brief note some observations on these components of cell nuclei are recorded.

Samples of nuclei prepared from a variety of tissues according to the method described by KAY *et al.*[1] were extracted in the cold with 0·7 *N* perchloric acid in the proportion of 5 ml/100 mg nuclei. The mixture was centrifuged and the residue was washed twice with 2 ml cold 0·7 *N* perchloric acid. The residues were reserved for estimation of RNA and DNA by the modification of the SCHMIDT-THANNHAUSER method described by SMELLIE, HUMPHREY, KAY, and DAVIDSON[2]. The combined extracts were treated with butanol to remove nucleosides and free bases leaving the nucleotides and inosine in the aqueous phase according to the method of GOLDWASSER[3]. The butanol extracts were taken to dryness and digested with 12 *N* perchloric acid at 100° to yield the individual purine and pyrimidine bases. The aqueous phase containing the nucleotides and inosine was also evaporated to dryness and digested with perchloric acid. Portions of the digest were applied to WHATMAN 3MM paper and the bases separated by two dimensional chromatography, using descending isopropanol: HCl (WYATT[4]) followed by ascending butanol: ammonia (MAC NUTT[5]). Appropriate blanks were also run. The bases were located in ultraviolet light and were eluted with 0·1 *N* HCl for all except guanine which required 1·6 *N* HCl. From readings of the optical density at appropriate wavelengths in the ultraviolet the amounts of each base were calculated and were then related to the DNA-phosphorus present in the original extracted sample. The values were thus obtained as μg base per mg DNA-P.

In some samples the total ultraviolet absorption of the perchloric acid extract was measured. For this estimation the perchloric acid extracts were diluted so that 1 ml was derived from an amount of nuclei containing 10 μg DNA-P. Absorption readings in the ultraviolet at 260 mμ were then made in the Beckman spectrophotometer, using appropriate perchloric acid blanks.

The values for the total ultraviolet absorption at 260 mμ of perchloric extracts of rabbit nuclei are shown in Table I. Since the figures quoted are related to the same amount of DNA-P it may be assumed that the various extracts are derived from comparable numbers of nuclei. The values show a wide scatter but the general pattern which emerges is that the nuclei from adult

[1] E. R. M. KAY, R. M. S. SMELLIE, G. F. HUMPHREY, and J. N. DAVIDSON, Biochem. J. (1955), in the press.
[2] R. M. S. SMELLIE, G. F. HUMPHREY, E. R. M. KAY, and J. N. DAVIDSON, Biochem. J. *60*, 177 (1955).
[3] E. GOLDWASSER, Biochim. biophys. Acta *13*, 341 (1954).
[4] G. R. WYATT, Biochem. J. *48*, 584 (1951).
[5] W. S. MACNUTT, Biochem. J. *50*, 384 (1952).

Total ultraviolet absorption at 260 mμ of perchloric acid extracts of non-aqueous nuclei isolated from various rabbit tissues
1 ml extract is derived from an amount of nuclei containing 10 μg DNA-P.

Tissue	DNA-P % dry wt	RNA-P % dry wt	Optical density (mean and range)	
Appendix	1·01	0·48	0·469 (0·294–0·644)	(12)*
Bone marrow	0·67	0·30	0·580 (0·440–0·720)	(5)
Intestinal mucosa	0·64	0·45	0·673 (0·493–0·853)	(7)
Lung	0·45	0·27	0·818 (0·551–1·085)	(11)
Thymus	1·68	0·35	0·277 (0·183–0·371)	(7)
Embryo liver	0·38	0·37	1·031 (0·512–1·550)	(3)

* Figures in brackets show the number of extracts examined.

tissues may be arranged in the following order of decreasing content of acid soluble ultraviolet absorbing material:–Lung, Intestinal mucosa, Bone marrow, Appendix, Thymus.

In embryo liver nuclei the mean value is higher than for any of the adult tissues but again the scatter is very great. High values were also found in two preparations of non-aqueous nuclei from the fowl GRCH 16 tumour.

The nucleotide bases found in the acid extracts included adenine which was most abundant, hypoxanthine, guanine, uracil and very small amounts of cytosine. In the nucleoside and free base fraction the bases were less plentiful than in the nucleotide fraction. Adenine and hypoxanthine were most abundant; guanine and uracil were present in smaller amounts and cytosine was found only in traces.

The scatter of values in different preparations was very great but the tissues could be arranged in the following order of decreasing base content:

Nucleotide bases:

(a) *Adenine.* Intestinal mucosa, bone marrow, appendix = lung, thymus.
(b) *Hypoxanthine.* Intestinal mucosa = lung, bone marrow, appendix, thymus.
(c) *Guanine.* Intestinal mucosa, bone marrow = lung, appendix, thymus.
(d) *Uracil.* Intestinal mucosa = bone marrow = appendix = lung, thymus.
(e) *Cytosine.* No important differences–all values low.

Non-nucleotide bases:

(a) *Adenine.* No particular trend as individual differences were too great.
(b) *Hypoxanthine.* Intestinal mucosa = lung, bone marrow = appendix, thymus.
(c) *Guanine.* No important differences–all values low.
(d) *Uracil.* No important differences–all values low.
(e) *Cytosine.* Present only in traces.

Results from two preparations of GRCH 16 tumour nuclei suggest that these nuclei are rich in adenine nucleotides but the most surprising feature of this material is the very high content of non-nucleotide hypoxanthine. This may be due in part to autolytic changes occurring either before removal from the animal or during the processing of the tissue.

Since mono-, di- and tri-nucleotides of adenine, guanine, cytosine and uracil are known to be present generally in living cells (Sacks, Lutwak, and Hurley[1]; Schmitz, Potter, Hurlbert, and White[2]; Schmitz, Hurlbert, and Potter[1]; Smith and Mills[2]), it is not surprising to find evidence of the occurrence of these bases and hypoxanthine as nucleotides, nucleosides and free bases in acid extracts of non-aqueous nuclei. Nucleotides of these bases have also been observed by Edmunds and LePage[3] in nuclei prepared in aqueous sucrose homogenates of liver and of Flexner Jobling carcinoma.

It is interesting however to find that in adult rabbit tissues there is no evidence of any preferential accumulation of such materials in those tissues in which cell division is active and the turnover of DNA is high (Smellie *et al.*[4]).

This work is being continued on a larger scale with material labelled with ^{14}C.

Acknowledgment:–This work was carried out with the aid of grants from the Medical Research Council and the British Empire Cancer Campaign.

E. R. M. Kay[5] and J. N. Davidson

Department of Biochemistry, The University of Glasgow, Scotland, August 30, 1955.

Zusammenfassung

Zellkerne, die aus Kaninchengewebe mittels eines nichtwässrigen Verfahrens bereitet werden, enthalten in ihren säurelöslichen Bestandteilen Nukleotide von Adenin, Hypoxanthin, Guanin, Uracil und (in sehr geringen Mengen) von Cytosin. Diese Stoffe wurden in Lunge, Darm-Mucosa, Knochenmark, Appendix und Thymus in abnehmender Konzentration vorgefunden.

[1] H. Schmitz, R. B. Hurlbert, and V. R. Potter, J. biol. Chem. *209*, 41 (1954).
[2] E. E. B. Smith and G. T. Mills, Biochim. biophys. Acta *13*, 386 (1954); *13*, 587 (1954).
[3] M. P. Edmonds and S. A. LePage, Cancer Res. *15*, 93 (1955).
[4] R. M. S. Smellie, G. F. Humphrey, E. R. M. Kay, and J. N. Davidson, Biochem. J. *60*, 177 (1955).
[5] British Empire Cancer Campaign Research Fellow.

Über das Cu^{2+}-Bindungsvermögen einiger Aminosäuren und Peptide

Metallionen und biologische Wirkung[1]

Wir haben in einer früher erschienenen Arbeit[2] gezeigt, wie das Cu^{2+}-Bindungsvermögen von biologischen Systemen durch das Vorhandensein von gelösten basischen Partikeln bestimmt wird. Die Menge der gefunde-

[1] 37. Mitteilung; 36. Mitteilung: R. Gall und H. Erlenmeyer, Helv. chim. Acta *38*, 1421 (1955).
[2] S. Fallab und H. Erlenmeyer, Exper. *11*, 174 (1955).

nen Cu^{2+} im Plasma wird demnach in der Hauptsache von der Konzentration und der Art der vorhandenen Proteine abhängen. Ausgehend vom Cu^{2+}-Bindungsvermögen einfacher Peptide als Proteinmodelle, wie Glycyl-Glycyl-Glycin, hatten wir versucht, das Verhältnis von gebundenen und freien Cu^{2+} im Plasma des Menschen zu berechnen.

Um genauere Kenntnis über die sich im Organismus abspielenden Reaktionen, an denen Cu^{2+} beteiligt sind, zu erhalten, interessierten wir uns in der Folge für das Cu^{2+}-Bindungsvermögen von in Plasmaproteinen vorkommenden Strukturkomponenten.

Bei einfachen Verbindungen genügt die Angabe einer einzigen Masszahl, zum Beispiel der Gleichgewichtskonstanten, zur Berechnung der Konzentrationen aller an einem Gleichgewicht beteiligten Partikel, und damit auch zur Ermittlung des Cu^{2+}-Bindungsvermögens.

Wenn hingegen die Struktur der Verbindung mehrere zur Komplexbildung befähigte Gruppen aufweist, wie dies bei Peptiden und Proteinen der Fall ist, ist es bedeutend schwieriger, die für die Charakterisierung aller möglichen Gleichgewichte notwendigen Konstanten zu ermitteln und an Hand solcher Konstanten die Menge Cu^{2+}, die diese Verbindung aus einer Lösung zu binden vermag, zu berechnen.

Es war daher für eine Systematik biologischer Systeme erwünscht, eine einfache, direkte Methode zur Ermittlung von vergleichbaren Werten des Cu^{2+}-Bindungsvermögens verschiedener Systeme zu entwickeln.

Eine solche Methode ist gegeben durch Verwendung des sehr stark gefärbten $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$-Komplexes als Indikator. $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$ reagiert, wie frühere Versuche gezeigt haben[1], mit Cu^{2+} nach der Gleichung (1):

$$[Fe(Dipy)_3]^{2+} + 3\ Cu^{2+} \rightleftarrows Fe^{2+} + 3[Cu(Dipy)]^{2+} \qquad (1)$$

Wird zu einem System, das $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$ und einen weiteren Komplexbildner enthält, Cu^{2+} hinzugefügt, so steht für diese Austauschreaktion (1) nur so viel Cu^{2+} zur Verfügung, als von diesem Komplexbildner nicht gebunden wird. Die durch spektrophotometrische Messungen zu ermittelnde Zunahme an verbleibender $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$ – gegenüber einem Vergleichsversuch nur aus $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$ und Cu^{2+} – ist demnach ein Mass für das Cu^{2+}-Bindungsvermögen des hier interessierenden Komplexbildners.

Wir haben mit dieser Methode das Cu^{2+}-Bindungsvermögen einer Reihe von Aminosäuren und Peptiden ermittelt.

Die Messresultate sind in den Abbildungen 1 und 2 graphisch dargestellt. Als Abszisse ist die Konzentration des im System vorhandenen Komplexbildners aufgetragen, als Ordinate die kolorimetrisch ermittelte verbleibende $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$-Konzentration. Die Messgrösse ist in erster Näherung zugleich ein Mass für die Menge der – unter den gewählten Versuchsbedingungen – an den Komplexbildner gebundenen Cu^{2+}. Bei genügend hoher Konzentration des zu prüfenden Komplexbildners erreicht sie in jedem Fall einen bestimmten gleichen Maximalwert. Signifikant für die Unterschiede im Komplexbildungsvermögens sind demnach vor allem die Versuche mit niedriger Konzentration an Komplexbildner.

Die hier durchgeführten Versuche liefern nur Vergleichswerte für das Komplexbildungsvermögen solcher basischer Verbindungen. Der pH wurde auf 5,2 ± 0,1 konstant gehalten. Der zu untersuchende Komplexbildner wurde zunächst in konzentrierter Lösung auf das pH 5,2 gebracht und dann mit Azetatpuffer vom pH 5,2 auf ein bestimmtes Volumen verdünnt. Zum Indikatorsystem, bestehend aus je 5 cm³ der Lösungen:

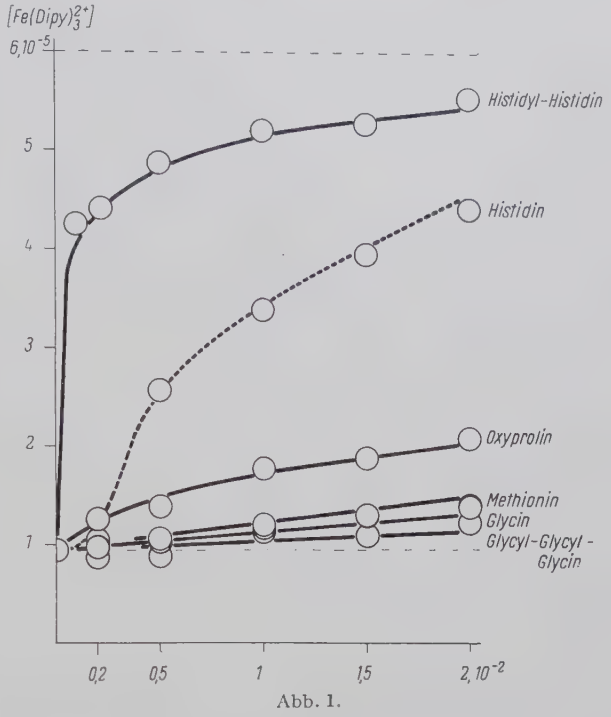


Abb. 1.

$6 \cdot 10^{-4}$ *m* $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6\ H_2O$ in Wasser, $18 \cdot 10^{-4}$ *m* Dipyridyl in Azetatpuffer und $14 \cdot 10^{-4}$ *m* $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ in Azetatpuffer, wurde alsdann eine bestimmte Menge der Lösung des Komplexbildners zugefügt und mit

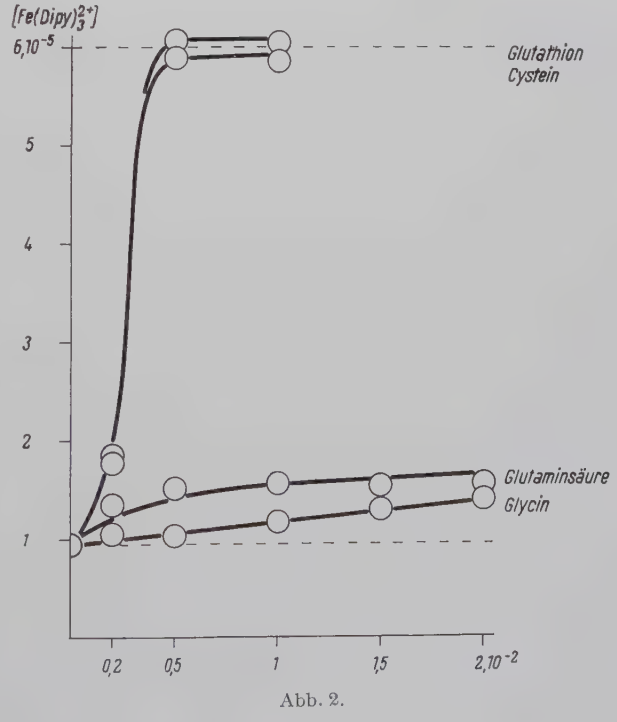


Abb. 2.

Azetatpuffer auf 50 cm³ aufgefüllt. Nach 24 h war das Gleichgewicht eingestellt, und es wurde die Absorption bei 5250 Å gemessen. In jedem Fall konnte durch einen

[1] P. G. Läuger, S. Fallab und H. Erlenmeyer, Helv. chim. Acta *38*, 92 (1955).

Kontrollversuch gezeigt werden, dass bei den gewählten Konzentrationen der Komplexbildner dem $[Fe(Dipy)_3]^{2+}$-Gleichgewicht kein Fe^{2+} entzieht. Der Durchmesser der Kreise in den Abbildungen 1 und 2 entspricht dem grössten beobachteten Fehlerintervall.

Die kolorimetrischen Messungen wurden mit einem Unicam-Spektrophotometer SP 500 durchgeführt. Bei den pH-Messungen bedienten wir uns eines Metrohm-Potentiometers E 187 mit kombinierter Glaselektrode.

Den Resultaten ist zu entnehmen, dass unter den untersuchten Aminosäuren Cystein und Histidin ein erheblich stärkeres Cu^{2+}-Bindungsvermögen aufweisen. Ausser den in den Abbildungen 1 und 2 aufgeführten Aminosäuren untersuchten wir Asparaginsäure, die sich wie Glutaminsäure verhält, ferner Arginin und Serin, die von Glycin nicht signifikant verschieden sind.

Bei den Peptiden zeigt Glycyl-Glycyl-Glycin kein stark abweichendes Verhalten gegenüber der einfachen Aminosäure. Das Tripeptid Glutathion verhält sich praktisch gleich wie sein Baustein Cystein. Auffallend ist das potenzierte Cu^{2+}-Bindungsvermögen von Histidyl-Histidin gegenüber seiner Komponente. Bei einer Konzentration von $0{,}2 \cdot 10^{-2}$ bindet das Peptid rund 10mal mehr Cu^{2+} als die Aminosäure.

G. Wolff, S. Fallab und H. Erlenmeyer

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel, den 20. August 1955.

Summary

The capacity of binding copper ions of several aminoacids and peptides has been investigated. A direct colorimetric method measuring comparable values of bound Cu^{2+} has been developed.

Über die Wirkung von Mischungen eines antigenhaltigen Plasmas mit einem antikörperhaltigen Serum auf die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms

In einer vorhergehenden Mitteilung haben wir beschrieben, dass bei Zusammenbringen von Antiserum mit entsprechenden Antigenen eine deutliche emigrationsfördernde Wirkung an Leukozyten auftritt[1]. Da Stoffe, besonders Bakterienpolysaccharide, welche eine solche Wirkung an Leukozyten besitzen, eine wachstumsanregende Wirkung am Fremdkörpergranulom ausüben[2], schien es möglich, dass ein Gemisch von Plasma und antikörperhaltigem Serum auch im tierischen Organismus eine solche Wirkung haben könnte. Diese Frage hat besonderes Interesse hinsichtlich des Entstehungsmechanismus der allergisch bedingten Bindegewebsreaktion.

Es wurden die Wirkung der Einzelkomponenten, verschiedene Antiseren und das homologe Serum oder Plasma und die Mischungen dieser Einzelkomponenten auf ihre Wirkungen am Fremdkörpergranulom in den von uns entwickelten Testen untersucht. Als Antigen-Antikörperseren wurden folgende geprüft:

1. Präzipitierendes Antihühnergansserum (Behring)
2. Präzipitierendes Antipferdeserum (S. B.).

Für die Untersuchung ist es Voraussetzung, dass unter vollkommen sterilen Kautelen gearbeitet wird. Diese wurden dadurch garantiert, dass folgende Vorsichtsmassnahmen getroffen wurden: Antigene und die verschiedenen antikörperhaltigen Seren wurden mit sterilen Tuberkulinspritzen in der gewünschten genauen Menge in der Kälte auf sterile Whatman-Papierstreifen aufgebracht und das Material lyophil getrocknet und gepresst. Die daraus hergestellten Presslinge wurden nach unserem üblichen technischen Verfahren zur Erzeugung von Fremdkörpergranulomen[1] Ratten dorsal eingepflanzt. Das entstehende Granulom wurde nach einem Intervall von 7 Tagen herauspräpariert und untersucht.

Das Ergebnis der Untersuchungen ist folgendes: Hühnerplasma und Pferdeserum und die verschiedenen Antiseren lösen auch bei Anwendung ohne jede Verdünnung praktisch keine granulomerregende Wirkung aus. Es kann in einzelnen Fällen eine ganz geringe, noch in der Fehlerbreite der Methode liegende Veränderung des Granulomgewichtes auftreten, doch ist sie in keinem Falle signifikant. Benutzt man zur Imprägnierung der Papierstreifen Mischungen von entsprechenden Mengen Antiseren in homologem Plasma, so erhält man deutliche granulomwachstumsfördernde Wirkung gegenüber den Kontrollen, die mit den Einzelkomponenten behandelt wurden. In quantitativer Hinsicht lässt sich dieser Effekt bei Verwendung von Verdünnungen von Antiserum zu Plasma noch deutlicher nachweisen, wie folgende Tabelle ergibt.

Granulomgewebegewicht

Tierzahl	Dosis	Absolut		Differenz mg
		mg	S.E.	
12 Kontrollen	—	146	± 12	—
6 Antihühnergansserum (Behring) . .	10^{-5}	156	± 12,7	+10
6 Hühnerplasma . . .	10^{-5}	160	± 11	+ 4
6 Antipferdeserum (S.B.)	10^{-5}	154	± 12,2	+ 8
6 Pferdeserum	10^{-5}	150	± 11,7	+ 4
6 Hühnerplasma	10^{-5}	221	± 14,3	+75
+ Antiserum 3/2	5×10^{-6}	186	± 12,7	+40
6 Pferdeserum	10^{-5}	194	± 20,0	+48
+ Antiserum 3/2	5×10^{-6}	173	± 13,0	+27

Dieser Effekt lässt sich sowohl mit Antihühnergansserum als auch mit Antipferdeserum mit homologem Plasma bzw. Serum zeigen, obwohl im letzteren Falle die entstandene fördernde Wirkung weniger ausgesprochen war, als es mit Antihühnerserum der Fall war.

Analog wie bei den Befunden an isolierten Zellen ist zu erwägen, welche Stoffe für die beobachtete Wirkung in Betracht gezogen werden können. Nach unseren eigenen Versuchen sind Histamin, Serotonin, Adrenalin, Heparin und Bradykinin, die eventuell bei dieser Antigen-Antikörperreaktion auftreten, auszuschliessen, weil sie nur in Konzentrationen, die etwa der Gesamtmenge des angewandten Serums entsprechen, eine deutliche granulomfördernde Wirkung zeigen. Ebenso rufen sie zum Teil eine ausgesprochene Reizwirkung hervor, bzw. eine Gefässerweiterung an der Konjunktiva des Kaninchenauges, die von dem Antiserumplasmagemisch in diesen Konzentrationen nicht gegeben wird. Damit dürfte es ausgeschlossen sein, dass diese Stoffe für die beobachtete granulomfördernde Wirkung in diesen

[1] R. Meier und B. Schär, Exper. (im Druck).

[2] R. Meier und B. Schär, Exper. *9*, 93 (1953); *10*, 376 (1954). – R. Meier, P. Desaulles und B. Schär, Arch. Exp. Path. Pharmakol. *224*, 104 (1955).

[1] R. Meier, W. Schuler und P. Desaulles, Exper. *6*, 469 (1950).

Versuchen in Frage kommen. Ebenfalls ist es unwahrscheinlich, dass dieser Effekt bloss auf die Wirkung fremder Proteine zurückzuführen ist, da die einzelnen Komponenten der Antigen-Antikörperreaktion sich als praktisch unwirksam auf die Förderung der Fremdkörpergranulombildung gezeigt haben. Ausserdem ist das fördernde Produkt höchst wahrscheinlich ausschliesslich im Präzipitat der Antigen-Antikörperreaktion vorhanden; es dürfte sich somit um eine hochmolekulare bzw. in einer hochmolekularen Form vorliegende Substanz handeln. Welche Substanzen hier in Frage kommen, ist auf Grund der vorliegenden Untersuchungen noch nicht zu entscheiden; wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

R. Meier, P. Desaulles und B. Schär

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 15. August 1955.

Summary

It has been shown that local application of a mixture of precipitating antiserum with homologous plasma or serum promotes markedly the growth of granuloma tissue in the rat.

Trypsin Sensitivity of Some Proteins of the Sea-Urchin Egg Before and After Fertilization An Electrophoretic Analysis

Upon fertilization the cytoplasmic proteins of the sea-urchin egg undergo a reorganization, as a result of which they acquire new properties[1].

Recently it has been found[2] that the fraction precipitated at 50% saturation of ammonium sulphate from an extract of newly fertilized eggs of the sea-urchin *Arbacia lixula* is less sensitive to the attack of trypsin than the one from unfertilized eggs.

It appeared then interesting to study this different susceptibility as this may offer an opportunity for a better understanding of the nature of the changes involved. As a preliminary study, the above fraction has been submitted to an electrophoretic analysis before and after treatment with trypsin.

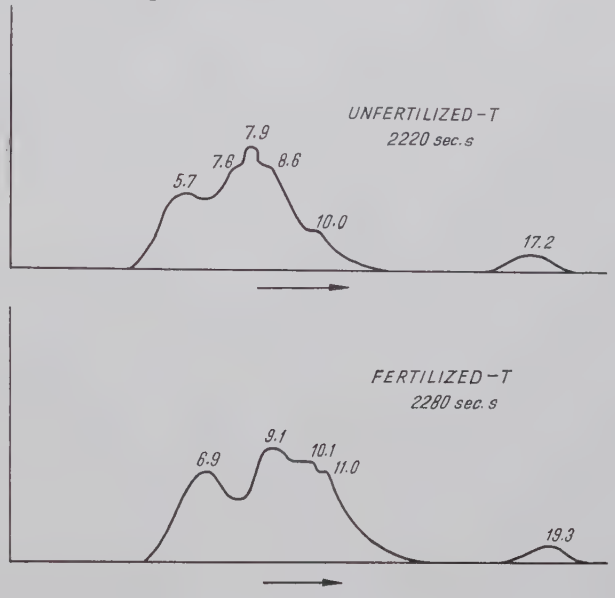
A main group of three components and a small fast component are present in the 50% fraction both from unfertilized and fertilized eggs of *Arbacia lixula*. The mobilities of the components of the fraction from fertilized eggs are somewhat higher than those of the unfertilized eggs. This point, however, will need further examination and will be discussed on a later occasion.

After a 30 min trypsin digestion, the main group is split off into five components in the fraction from unfertilized eggs whereas only four are present in the one from fertilized eggs. Here again all the components of the fraction from fertilized eggs have a higher mobility than those of the unfertilized eggs (Figure).

These results are a further evidence of the deep-lying changes the proteins of the sea-urchin egg undergo as a result of fertilization.

Experimental. Jelly-coat-free eggs of *Arbacia lixula* (unfertilized and about 15 min after fertilization) were homogenized in the cold with a buffered 1 M LiCl solution containing 0·2% of Versene. After centrifugation at 20,000 g in the cold for 30 min, the supernatant was precipitated with the addition of an equal amount of a saturated solution of ammonium sulphate in phosphate buffer (0·007 M, pH 7·1). The collected precipitate was redissolved in 0·5 M KCl and dialysed against 0·1 N Na-bicarbonate. 1·0 cm³ of this solution was then incubated at 32° C for 30 min with 0·1 cm³ of a 0·05% solution of Armour crystalline trypsin in 0·002 N←→HCl. At the end of the incubation, 0·1 cm³ of 0·01 N di-isopropyl-fluorophosphate (DFP.) was added (kindly synthesized for us by Dr. Sanders, Cambridge) and after about 15 min the mixture was re-dialysed against bicarbonate as previously. The bicarbonate buffer proved quite effective for the electrophoretic analysis. Incubation and DFP. treatment were run at the same time in the controls.

For the electrophoresis, the Kern micro-apparatus was used. From the photographs of the interference diagramms the gradient curves were calculated according to the technique of Cazal and Carli[1].



Electrophoretic diagrams of the 50% fraction of unfertilized and fertilized eggs of *Arbacia* after treatment with trypsin. Descending limb. Electrophoresis in 0·1 N Bicarbonate at a Pot. grad. of 6·3 Volts/cm.

Protein concentration was determined before each electrophoretic run in order to keep concentrations as constant as possible. This determination was done according to the technique of Lowry *et al.*[2] using a solution of serum albumin as a standard.

The present investigations have been supported by grants from Consiglio Nazionale delle Ricerche and from Istituto Superiore di Sanità.

V. D'Amelio

Laboratory of Comparative Anatomy, University of Palermo, Italy, July 10, 1955.

Riassunto

La frazione precipitata al 50% di saturazione di solfato di Ammonio da estratti di uova vergini e fecondate di *Arbacia lixula* presenta all'analisi elettroforetica un gruppo principale di tre componenti. Per trattamento con tripsina questo gruppo si risolve in cinque componenti nella frazione proveniente da uova vergini ed in quattro in quella proveniente da uova fecondate.

[1] J. Runnström, Adv. Enzymol. *9*, 278 (1949). – A. Monroy, Intern. Rev. Cytology (in press).

[2] G. Giardina and A. Monroy, Exper. Cell Res. (in press).

[1] P. Cazal and G. Carli, Sem. Hop. Paris *30*, (1954).

[2] O. H. Lowry, N. J. Rosenborough, L. A. Farr, and R. J. Randall, J. biol. Chem. *193*, 265 (1951).

Tolerance of Red Cell Antigens and Transplantation Immunity in Chickens

"Acquired tolerance" has been defined[1] as the specific inhibition of immunological response which is caused by the exposure of embryonic or very young animals to antigenic stimuli. Hašek[2] has shown that the synchorial anastomosis ("parabiosis") of chicks from the 10th day of embryonic life until hatching leads to a prolonged and radical impairment of their power to form iso-agglutinins when injected in later life with the blood from the parabiotic partner. We ourselves[1] had shown that the injection of 10-day old chicken embryos with 0·1 ml whole blood from an adult chicken will cause a high proportion to become tolerant of skin homografts later transplanted from the donor of the injected blood. The purpose of the present communication is to show that these two forms of tolerance depend upon the inhibition of different and experimentally separable immunological reactions.

We have lately shown[3] that even the period of birth in chicks is not too late for the induction of tolerance. Chicks were injected intravenously, within 12 h of hatching, with 0·5 ml whole blood from an adult donor of different breed; when tested with skin homografts from the blood donor 14 days later, 40–45% were found to tolerate their homografts for more than a month instead of for less than 10 days. It has furthermore been proved[3] that the power of whole blood to confer tolerance of skin homografts resides wholly in the leucocyte fraction; it may be abolished either by removing the leucocytes or by heating the blood to 49°C for 20 min. These treatments, which remove or inactivate the antigens responsible for transplantation immunity, need not be expected to affect the red cell iso-agglutinogens.

In the present experiment, heparinized venous whole blood from an adult Rhode Island Red (RIR) hen was freed from leucocytes by differential centrifugation and filtration through glass wool; then–to be doubly certain of the removal of "transplantation" antigens–it was heated for 20 min to a temperature between 49°C and 50°C. The red cells were finally suspended in Ringer-phosphate at the concentration at which they were originally present in whole blood. Within 6 h of hatching, 10 members of a homogeneous batch of 20 White Leghorn chicks were injected intravenously with 1·0 ml of this essentially "pure" preparation of red cells. When the 20 chicks were 7 weeks old, each was injected intramuscularly with 1·0 ml whole blood from the original RIR donor; four further injections were given at 5-day intervals. 5 days after the last injection, sera from all the chicks were tested for the presence of red cell iso-agglutinins against a 2% suspension in Ringer's solution of the donor's washed red cells. The agglutination tests were carried out by incubating equal mixtures of antibody and cell suspension in miniature test-tubes for 1 h at 37°C; the degree of agglutination was then read microscopically on slides. Instead of titrating each of the antisera individually, it was found adequate to read the scores cross-sectionally at serum dilutions of ½ (Table I) and $^1/_{10}$ (Table II). In these two Tables, ± represents an agglutination just perceptible under the microscope, and + an agglutination just perceptible to the naked eye; +++ or ++++ represent a bold and coarse aggregation.

These results show that, as a group, the chickens injected with adult homologous red cells at hatching (EXP) responded much more feebly to active immunization than their untreated controls (CON). Some, indeed, did not react at all; that tolerance should have been incomplete in the others is not surprising, for the injection conferring tolerance was confined to a single dose administered relatively late in development. It follows that tolerance of red cell iso-antigens in chickens may be experimentally distinguished from tolerance of the antigens responsible for transplantation immunity, for blood freed from leucocytes or heated to 49–50°C contains no active transplantation antigens and is incapable of producing a perceptible tolerance of homografts of skin[1].

R. E. Billingham, L. Brent, and P. B. Medawar

Department of Zoology, University College, London, W. C. 1, August 1, 1955.

Résumé

L'injection d'érythrocytes de la poule adulte à poussins récemment éclos abaisse sérieusement leur capacité de repondre dorénavant à l'immunisation active par la formation d'iso-agglutinines.

La tolérance à l'égard d'homéogreffes de peau n'est en rien due aux érythrocytes, mais exclusivement aux leucocytes.

Nous tirons de ces faits la conclusion que la formation d'isoagglutinines et la réaction conduisant à la destruction d'homéogreffes cutanées représentent deux modes de réponse immunologique nettement différents.

[1] R. E. Billingham, L. Brent, and P. B. Medawar, Nature *172*, 603 (1953); Ann. N. Y. Acad. Sci. *59*, 409 (1955).

[2] M. Hašek, Cesk. Biol. *2*, 25, 265 (1953); Nature *175*, 765 (1955).

[3] R. E. Billingham, L. Brent, and P. B. Medawar, Philos. Trans. Roy. Soc. [B], in the press.

Table I.–Dilution ½.

EXP:	0	0	±	+	+	+	++	++	+++		++++				
CON:				+			++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++

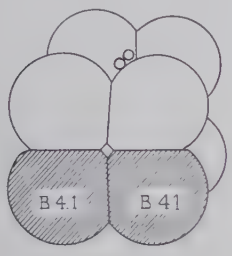
Table II.–Dilution $^1/_{10}$.

EXP:	0	0	0	±	±	±	+	+	+	++					
CON:				±	±		+			++	++	+++	+++	+++	+++	+++

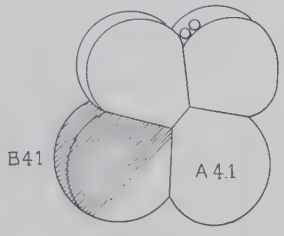
Iso-agglutinin formation in chickens in response to the injection of whole blood. Both groups of animals (EXP and CON) were immunized in exactly the same way, but those marked EXP had been injected with 1·0 ml of homologous red cells within 6 h of hatching.

The Presumptive Territory of the Mesoderm in the Ascidian Germ

Recent experimental investigations on Ascidian development have made necessary a revision made by presumptive organ territory map originally made by CONKLIN[1]. CONKLIN's map was based on the segregation of pigmented plasms within the egg. I have made such a revision[2] by marking the blastomeres with granules of coloured chalk: these granules adhere firmly to the surface of particular blastomeres, whose further destiny can thus be followed during the morphogenetic movements and as far as their final differentiation. In my experience the topography of the organ territories, as described by CONKLIN, is acceptable in its fundamental lines; nevertheless in many details it requires correction. One of these corrections concerns the localization of the presumptive territory of mesenchyme and muscle cells.

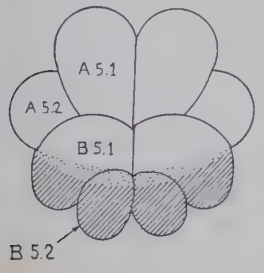


1

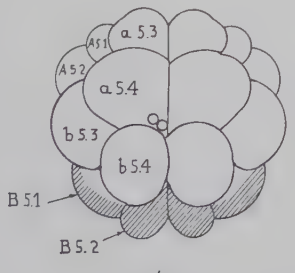


2

According to CONKLIN, mesenchyme and muscle cells derive from a single primitive mesodermal territory, evident by virtue of its yellow plasm, in the form of a crescent, lying in the posterior vegetative part of the uncleaved egg. At the 8-cell stage the presumptive territory of the mesenchyme is localized, according to CONKLIN, in the extreme posterior part of the two posterior vegetative blastomeres, the remaining part of these blastomeres being formed by the plasms of muscle cells and of endoderm. At the 16-cell stage the mesenchyme territory segregates into the blastomeres B5.1, B5.2; at the 32-cell stage, into the blastomeres B6.2, B6.3, B6.4; and at the 64-cell stage, into the blastomeres A7.6, B7.3, B7.7, B7.5, B7.6. At the same stage the presumptive territory of the muscle cells is localized by CONKLIN in the blastomeres B7.4, B7.8. Thus, at 64-cell stage there are 10 presumptive mesenchyme cells and 4 muscle cells.

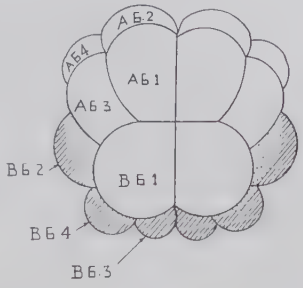


3

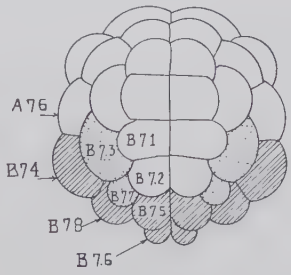


4

I have found this distribution to be not entirely correct. According to my results, at the 8-cell stage the presumptive territory of mesenchyme is not localized in the extreme posterior part of the B4.1 cells: Figure 1, which represents the embryo at the 8-cell stage as seen from the behind, shows that the whole posterior part of the B4.1 blastomeres is occupied by the presumptive territory of the muscle cells, whereas the mesenchyme territory is localized in small areas on both the right and left sides, as illustrated in Figure 2. At the 16-cell stage the B5.2 cells contain mostly myoplasmic material, and only a small part of mesenchyme material (Fig. 3 and 4).



5



6

Cross-hatched part: Presumptive territory of muscle cells.
Dotted part: Presumptive territory of mesenchyme.

Fig. 1.–8-cell stage, from the posterior part, showing the tail muscle territory.
Fig. 2.–8-cell stage, from the left side.
Fig. 3.–16-cell stage, from the dorsal (vegetative) side.
Fig. 4.–16-cell stage, from the ventral (animal) side.
Fig. 5.–32-cell stage, from the dorsal part.
Fig. 6.–64-cell stage, from the dorsal part.

At the 32-cell stage the B6.3 blastomeres contain only myoplasmic material; the B6.4 and B6.2 contain both muscle and mesenchyme materials (Fig. 5) which segregate only in the next cleavage, passing respectively into the B7.8 (muscle), B7.7 (mesenchyme), and the B7.4 (muscle), B7.3 (mesenchyme) (Fig. 6). Thus, at the 64-cell stage there are 8 presumptive muscle cells and 4 mesenchyme cells. The differences between CONKLIN's results and mine are tabulated as follows:

Stage				CONKLIN's cell-lineage	Personal observations
8-	16-	32-	64-cell		
B4.1	B5.1	B6.1	B7.1	endoderm	endoderm
			B7.2	endoderm	endoderm
		B6.2	B7.3	mesenchyme	mesenchyme
			B7.4	muscle	muscle
	B5.2	B6.3	B7.5	mesenchyme	muscle
			B7.6	mesenchyme	muscle
		B6.4	B7.7	mesenchyme	mesenchyme
			B7.8	muscle	muscle

As shown in Figure 6, at the 64-cell stage the posterior parts shows an external semicircle of 8 presumptive muscle cells (B7.4, B7.8, B7.5, B7.6, *B* 7,6, *B* 7,5, *B* 7,8, *B* 7.4) enclosing another incomplete semicircle of presumptive mesenchyme cells (B7.3, B7.7, *B* 7,7, *B* 7,3).

The fate of the A7.6 cells is of interest. These blastomeres derive from the anterior vegetative part and, according to CONKLIN, are presumptive mesenchyme cells. This is improbable, since the yellow crescent does not reach the anterior quadrant. Removal of the posterior vegetative blastomeres[1] results in a complete absence of mesenchyme and muscle cells in the developing larvae.

[1] E. G. CONKLIN, J. Acad. Nat. Sci. Philadelphia *13*, 1 (1905).
[2] G. ORTOLANI, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *25*, 161 (1954).

[1] L. VON UBISCH, Roux' Arch. *139*, 438 (1939). – G. REVERBERI and A. MINGANTI, Pubbl. Staz. Zool. Napoli *20*, 199 (1946).

Only in a very few cases did von Ubisch, as well as Reverberi and Minganti, obtain larvae with some muscle cells: these results may be explained if one supposes that the A7.6 cells occasionally contain myoplasmic material. Von Ubisch, accepting Conklin's schemes, had to assume a change of destiny of presumptive mesenchyme material into muscle cells, but such a regulation is not probable. It would appear more probable that in some cases the anterior extremities of the yellow crescent remain within the anterior blastomeres at the 2nd cleavage, and are then segregated into the A7.6 cells. This point needs further investigation.

G. Ortolani

Zoological Institute, University of Palermo, Italy, August 3, 1955.

Riassunto

Col metodo delle marche con granuli di gesso colorato, sono stati modificati gli schemi di Conklin riguardanti i territori presuntivi del mesenchina e della muscolatura nel germe di Ascidie.

Umwandlung von radioaktivem Cortexon in Aldosteron durch Nebennieren-Enzyme[1]

Vor einiger Zeit konnten wir zeigen, dass sich der Aldosterongehalt in Vollhomogenaten von Rinder-Nebennieren durch aerobe Inkubation unter Zusatz geeigneter Aktivatoren wesentlich steigern lässt[2]. Dies deutete darauf hin, dass in den Rinder-Nebennieren Vorstufen enthalten sein müssen, welche sich bei Aktivierung der Enzymsysteme in Aldosteron überführen lassen. Sobald die Konstitution dieses Hormons aufgeklärt war[3], wurden daher in weiteren Versuchen[2] verschiedene Steroide als Modelle einer solchen Vorstufe der Inkubation mit Vollhomogenaten unterzogen, darunter Progesteron, Corticosteron und Cortexon (= 11-Desoxycorticosteron). Im Gegensatz zu den beiden ersten war Cortexon in der Tat fähig, die Aldosteronbildung gegenüber entsprechenden Parallelversuchen um das 2- bis 3fache zu erhöhen, und zwar auf einen maximalen Gehalt von etwa 3 mg Aldosteron je kg Nebennieren. Cortexon schien daher eine der möglichen Vorstufen für Aldosteron darzustellen, besonders nachdem uns der Nachweis einer 18-Hydroxylase in der Nebenniere gelungen war[4].

Wir haben nun radioaktives 21-C^{14}-Cortexon durch aerobe Inkubation in Aldosteron übergeführt. Es standen uns 1,3 mg 21-C^{14}-Cortexon-azetat[5] zur Verfügung, die auf übliche Weise mit Kaliumhydrogenkarbonat hydrolysiert wurden[6]. Das erhaltene freie 21-C^{14}-Cortexon reinigten wir papierchromatographisch und verwendeten die Hälfte davon für den folgenden Inkubationsansatz, der unter bisher optimalen Bedingungen für die Aldosteronbildung durchgeführt wurde.

Ein Vollhomogenat aus 220 g schlachtfrischen Kuh-Nebennieren mit den üblichen Zusätzen[1] sowie 1,11 g ATP, 110 mg DPN und 2,2 mg TPN wurde mit 110 mg Cortexon, das eine Totalaktivität von etwa 385 000 cpm[2] aufwies, 3 h bei pH 7,25 und 35° unter Durchleiten von 3 l O_2/min inkubiert. Die Aufarbeitung erfolgte zunächst in gleicher Weise wie bei früheren Versuchen[3].

Für die feinere Auftrennung des Reaktionsgemisches wurden der Äthylenchloridextrakt sowie der Petroläther-extrakt, letzterer nach Vorreinigung durch Verteilung zwischen Methanol und Hexan, an Silicagel chromatographiert und dabei jeweils die Chloroform-Azeton (1:1)-Eluate gewonnen. Diese Eluate zerlegte man anschliessend chromatographisch im System Formamid/Benzol-Chloroform (1:1) auf Zelluloseblättern in 5 Fraktionen a_1, b_1, c_1, d_1 und e_1. Gemäss analytischer Kontrolle[4] mit Hilfe von UV.-Absorption, Reduktionsvermögen, Natronlauge- und Phosphorsäure-Fluoreszenz im UV. enthielt Fraktion a_1 die stark polaren Verbindungen wie Hydrocortison, Cortison und Aldosteron neben weiteren, noch unidentifizierten Substanzen. Durch eine zweite präparative Papierchromatographie in Propylenglykol/Toluol (28 h) wurde a_1 in weitere 5 Fraktionen a_2, b_2, c_2, d_2 und e_2 aufgeteilt, von welchen d_2 zur Hauptsache Aldosteron und Cortison enthielt. Hydrocortison befand sich in b_2. Eine dritte Chromatographie im System *C* von Bush lieferte aus Fraktion d_2 nochmals 5 Fraktionen, a_3, b_3, c_3, d_3 und e_3, wobei sich Aldosteron in c_3 und Cortison in d_3 befand. Da c_3 ausserdem noch eine reduzierende Verunreinigung enthielt, wurde diese Fraktion im gleichen System rechromatographiert. Von den dabei anfallenden Fraktionen a_4 bis d_4 enthielt c_4 die reduzierende Verunreinigung und b_4 chromatographisch reines, amorphes Aldosteron. Von letzterem kristallisierte man 0,1 mg aus feuchtem Äther-Aceton. Es schmolz zuerst bei 108 bis 112°, kristallisierte dann teilweise wieder, um schliesslich bei 153–158° zu schmelzen. Im Gemisch mit authentischem Aldosteron zeigte es keine Smp.-Erniedrigung.

Durch UV.-Absorption, Reduktionsvermögen und Natronlauge-Fluoreszenz konnten total 0,87 mg Aldosteron nachgewiesen werden[5]. Die Ausbeute betrug also 0,97 Gew.% bezogen auf das eingesetzte Cortexon oder 3,95 mg je kg Nebennieren. Dieses chromatographisch einheitliche, aber noch amorphe Präparat, das übrigens leicht, aber in dieser Menge nur verlustreich zu radioaktivem Aldosteron kristallisiert werden konnte, zeigte eine Gesamtaktivität von 1340 cpm, was 0,35% der eingesetzten Aktivität entspricht. Daher müssen mindestens 0,42 mg oder 48% des isolierten Aldosterons aus Cortexon entstanden sein. Die restliche Menge, das heisst, höchstens 0,45 mg oder 52% stammen dagegen zum kleineren Teil aus dem vorgebildeten Aldosteron der Nebennieren und zum grösseren aus Aldosteron, das

[1] 134. Mitteilung über Steroide. Auszugsweise vorgetragen am 3. August 1955 anlässlich des 3. Internat. Kongresses für Biochemie in Brüssel. 133. Mitteilung siehe E. Vischer, Ch. Meystre und A. Wettstein, Helv. chim. Acta *38*, 1502 (1955).

[2] A. Wettstein, F. W. Kahnt und R. Neher, CIBA Found. Colloqu. Endocrinol. *8*, 170 (1955); siehe auch A. Wettstein und G. Anner, Exper. *10*, 415 (1954).

[3] S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein, Exper. *10*, 132 (1954); Helv. chim. Acta *37*, 1201 (1954).

[4] F. W. Kahnt, R. Neher und A. Wettstein, Helv. chim. Acta *38*, 1237 (1955).

[5] Dieses Material wurde uns freundlicherweise von Prof. L. T. Samuels, Salt Lake City, überlassen, wofür wir ihm auch an dieser Stelle bestens danken.

[6] T. Reichstein und J. v. Euw, Helv. chim. Acta *21*, 1181 (1938).

[1] A. Wettstein, F. W. Kahnt und R. Neher, CIBA Found. Colloqu. Endocrinol. *8*, 170 (1955); siehe auch A. Wettstein und G. Anner, Exper. *10*, 415 (1954).

[2] Für die Durchführung dieser Messungen danken wir Herrn Dr. Rometsch bestens.

[3] F. W. Kahnt, R. Neher und A. Wettstein, Helv. chim. Acta *38*, 1237 (1955).

[4] F. W. Kahnt, R. Neher und A. Wettstein, Helv. chim. Acta *38*, 1237 (1955).

[5] S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein, Helv. chim. Acta *37*, 1163 (1954). R. Neher und A. Wettstein, Acta endocrinol. *18*, 386 (1955).

sich erst im Laufe der Inkubation aus natürlichen Vorstufen im Nebennierenhomogenat gebildet hat. Damit bestätigt sich unser früherer Befund: Cortexon wird tatsächlich durch Nebennierenenzyme *in vitro* in Aldosteron umgewandelt. Die geringe Umsetzung lässt aber darauf schliessen, dass die natürlichen Aldosteronvorstufen in Rinder-Nebennieren nicht ausschliesslich Cortexon sein können, welches bekanntlich nur in äusserst kleiner Menge in Nebennieren vorkommt.

Durch Perjodsäureabbau des amorphen radioaktiven Aldosterons zu dem bekannten (20→18)-Lakton[1] konnte ersteres einerseits zusätzlich charakterisiert werden. Anderseits bewies die beobachtete Inaktivität des unter Verlust des radioaktiven Kohlenstoffatoms 21 gebildeten Laktons, dass es sich beim radioaktiven Aldosteron, wie erwartet, ausschliesslich um die 21-C^{14}-Verbindung gehandelt hat. Diese wird also direkt aus dem 21-C^{14}-Cortexon, das heisst durch Oxygenierung und Dehydrierung, entstanden sein und nicht auf dem Umweg über Cortexonabbauprodukte. Entsprechend erwies sich der bei der Perjodsäureoxydation des radioaktiven Aldosterons entstandene und als Dimedonverbindung isolierte Formaldehyd als deutlich radioaktiv.

Gleichzeitig wurde auch die Bildung von *Corticosteron aus Cortexon* untersucht, obwohl die gewählten Bedingungen für diese Umwandlung nicht optimal waren. Aus Fraktion c_1 erhielten wir 32,3 mg Corticosteron, welches grösstenteils kristallisiert werden konnte und insgesamt 91900 cpm aufwies. Dies entspricht 23,9% der eingesetzten Aktivität. Somit sind mindestens 27,2 mg oder 84% des Corticosterons aus dem zugesetzten Cortexon entstanden und nur 16% oder 5,1 mg stammten aus den Nebennieren.

Bei der Untersuchung der unter anderem das Hydrocortison enthaltenden Fraktion b_2 wurde überraschend ebenfalls starke Radioaktivität aufgefunden. Diese konnte jedoch bei weiterer chromatographischer Reinigung der Fraktion gänzlich einer noch unidentifizierten Verbindung zugeschrieben werden, während sich das reine, kristallisierte Hydrocortison als inaktiv erwies. Diese Beobachtung bestätigt erneut den von verschiedener Seite erhobenen Befund, dass die Einführung von Hydroxylgruppen, zum Beispiel in Progesteron, bei der Inkubation mit Nebennierengewebe vorwiegend in der Reihenfolge der 17-, 21- und 11-Stellung erfolgt[2].

F. W. Kahnt, R. Neher und A. Wettstein

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, Pharmazeutische Abteilung, den 26. August 1955.

Summary

Cortexone labeled in the 21-position with C^{14} yielded radioactive Aldosterone through incubation with beef adrenal homogenate. Its activity, due entirely to the 21 carbon atom, showed that about 48% of the Aldosterone had arisen from a direct conversion of cortexone without intermediate degradation. The low yield by weight in this conversion suggests, however, that cortexone is not the only natural precursor for Aldosterone in the adrenal.

The radioactivity of the corticosterone obtained showed that about 84% of it originated from added cortexone. Lack of radioactivity of the hydrocortisone confirmed that it does not essentially result from cortexone.

[1] S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein, Exper. *10*, 132 (1954); Helv. chim. Acta *37*, 1201 (1954).

[2] Literatur siehe in S. Roberts und C. M. Szego, Ann. Rev. Biochem. *24*, 549 (1955).

Wirkungsverstärkung von Adrenalin und Noradrenalin durch Azetylcholin am isolierten Irisdilatator des Kaninchens

Der isolierte Irisdilatator des Kaninchens wird durch Eserin gegenüber Adrenalin und Noradrenalin sensibilisiert[1]. Falls die Empfindlichkeitssteigerung über eine Hemmung der Cholinesterase zustande kommt, müssten ausser Eserin auch andere Anticholinesterasen sensibilisieren. Es stellt sich die Frage, ob dabei die sensibilisierende Wirkung lokal gebildetem Azetylcholin zukommt, welches sich unter dem Einfluss von Anticholinesterasen im Irisgewebe anreichert. Daher soll geprüft werden, ob grundsätzlich Azetylcholin die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin verstärken kann.

Wir untersuchten radiäre Dilatatorsektoren der isolierten Kaninchenіris mit der an anderer Stelle beschriebenen Methode[2]. Einem Teil der Tiere wurde zur chronischen Denervierung des Dilatator 4–15 Tage vor dem Versuch das rechtsseitige Ganglion *cervicale superius* (aseptisch) entfernt. Die Dilatatorsektoren hingen in konstant fliessender Tyrodelösung (pH = 7,2; T = 37°C). Registriert wurde die isometrische Kraftentwicklung bei Umströmung des Präparates mit Lösungen verschiedener Wirkstoffkonzentration.

Wie Eserin verstärkt auch *Prostigmin* in einer Konzentration von 10^{-6}–10^{-5} m die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin. Allein gegeben führt Prostigmin nur zu einer geringfügigen langsamen Tonuszunahme des Dilatator.

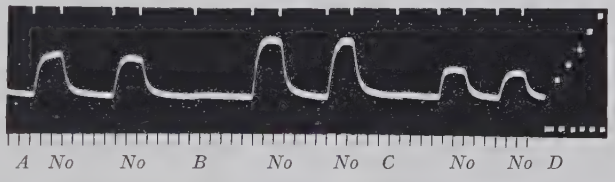


Abb. 1. Kaninchendilatator. Verstärkung der durch Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen unter Azetylcholin. Jedesmal bei *No*: L-Noradrenalin $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ m. Von *A–B*: ohne A. Ch. Von *B–C*: unter A. Ch. $5 \cdot 10^{-6}$ m. Von *C–D*: Nach Auswaschen des A. Ch. *t* = Minuten. *D*: Eichkurve, zeigt Ausschläge des isometrischen Registrierhebels bei Belastung mit 15, 20, 25, 30 und 35 mg.

Azetylcholin verstärkt schon in Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-7}$ m bis $5 \cdot 10^{-6}$ m die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen (Abb. 1). Die Wirkungsverstärkung von Adrenalin ist ungefähr gleich gross wie diejenige von Noradrenalin (Tab. 1). Der Azetylcholineffekt ist leicht auswaschbar und während eines mehrstündigen Versuches beliebig repetierbar. Der gegenüber Adrenalin und Noradrenalin sehr empfindliche chronisch denervierte Dilatator[3] erfährt durch Azetylcholin noch eine zusätzliche Sensibilisierung gegenüber Adrenalin und Noradrenalin (Abb. 2). In einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ m allein gegeben hat Azetylcholin in der Regel keine deutliche Wirkung auf den normalen Dilatator. Die Eigenwirkung des Azetylcholins im Sinne einer Kontraktion (siehe auch[4]) ist jedoch stärker am chronisch sympathektomierten Präparat. Warum trotz möglichst konstanter Versuchsbedingungen die Dilatatorpräparate von einem Teil der Kaninchen durch Azetylcholin nicht sensibilisiert werden, können wir nicht beurteilen.

[1] J. C. Rüegg, Helv. Physiol. Acta *13*, C29 (1955).

[2] J. C. Rüegg, erscheint in Helv. Physiol. Acta.

[3] J. C. Rüegg, Helv. Physiol. Acta *13*, C 29 (1955).

[4] J. C. Rüegg und W. R. Hess, Helv. Physiol. Acta *11*, 216 (1953).

Zur Abklärung der Frage der Spezifität der beschriebenen Azetylcholinwirkung haben wir einerseits Cholin, anderseits Atropin untersucht. *Cholin* führt in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ m nicht zu einer Wirkungssteigerung von Adrenalin und Noradrenalin, während im gleichen Versuch Azetylcholin schon in 10mal geringeren Konzentrationen die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen deutlich

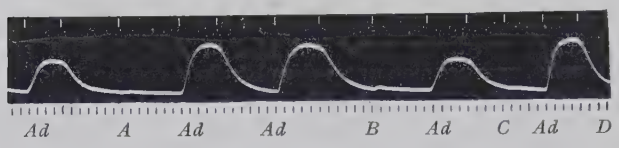


Abb. 2. Kaninchendilatator, chronisch denerviert. Verstärkung der durch Adrenalin hervorgerufenen Kontraktionen unter Azetylcholin. Jedesmal bei *Ad*: L-Adrenalin $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ m. Von *A–B* und von *C–D*: unter A. Ch. $5 \cdot 10^{-7}$ m. *t* = Minuten.

verstärkt. In höheren Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-5}$ m hingegen kann auch nach Cholin eine verstärkte Adrenalin- und Noradrenalinwirkung beobachtet werden. Der Cholineffekt ist wie der Azetylcholineffekt leicht auswaschbar und im gleichen Versuch repetierbar. In Gegenwart von *Atropin* (10^{-7}–10^{-6} m) hat Azetylcholin keine sensibilisierende Wirkung gegenüber Adrenalin und Noradrenalin, während es im gleichen Versuch vor der Zugabe von Atropin die Adrenalin- und Noradrenalinkontraktionen deutlich verstärkt. Ausserdem haben Adrenalin und Noradrenalin nach Atropinisierung eine schwächere Wirkung als ohne Atropin[1].

Tabelle I. Verstärkte Adrenalin- und Noradrenalinkontraktionen unter Azetylcholin (A.Ch.).

Isolierter Kaninchen-dilatator	Serie	Kontraktionen durch Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Mittelwerte der Spannungszunahmen in mg ohne A.Ch.	unter A.Ch.	Nach Auswaschen von A.Ch.	Verstärkungsfaktor	Anzahl Versuche*
normal	1	(N) 10	(N) 17	(N) 8	1,9×	6
	2	(A) 11	(A) 17	(A) 9	1,7×	5
chronisch denerviert	3	(N) 11	(N) 18	(N) 9	1,8×	3
	4	(A) 10	(A) 18	(A) 9	1,9×	4

Pro Versuch 6–15 Kontraktionen durch dieselbe Konzentration Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Um vor Zugabe des Azetylcholins einheitliche Kontraktionen entsprechend etwa 10 mg Spannungszunahme zu erhalten, waren folgende Konzentrationen notwendig: 1. Serie: $2{,}5 \cdot 10^{-6}$–$5 \cdot 10^{-6}$ m; 2. Serie: $2{,}5 \cdot 10^{-7}$–$5 \cdot 10^{-7}$ m, 3. und 4. Serie: $2{,}5 \cdot 10^{-8}$–10^{-7} m. Azetylcholin in Schwellenkonzentrationen (für Eigenwirkung) beim normalen Dilatator $5 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-5}$ m, beim denervierten Dilatator $5 \cdot 10^{-7}$–$5 \cdot 10^{-6}$ m.

* 18 Präparate von 10 Kaninchen (nicht inbegriffen sind 6 Präparate von 4 Kaninchen ohne Wirkungsverstärkung).

Es bleibt offen, auf welche Weise die azetylcholinbedingte Wirkungsverstärkung zustande kommt. Die von uns am isolierten Kaninchendilatator unter übersichtlichen Versuchsbedingungen gefundene Beziehung zwischen Azetylcholin und Adrenalin bzw. Noradrenalin lässt sich mit ähnlichen Befunden an andern Organen weiterer Tierarten vergleichen. Eine Verstärkung der Adrenalin- und Noradrenalinwirkung durch Azetylcholin ist auch an der Mäusepupille[1], an der Nickhaut[2], am isolierten Darm[3] und am perfundierten Herzen[3] festgestellt worden.

J. C. Rüegg[4] und H. Langemann

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich, den 2. August 1955.

Summary

Radial strips of the isolated iris of rabbits were suspended in streaming Tyrode's solution and their contractions were registered isometrically. The contractions produced by adrenaline or noradrenaline were increased after the administration of eserine or neostigmine. Acetylcholine in a concentration $5 \cdot 10^{-7}$–$5 \cdot 10^{-6}$ M enhanced the effect of adrenaline and noradrenaline on both, the normal and the chronically denervated dilator muscle. Acetylcholine did not enhance the contractions by adrenaline and noradrenaline in the presence of atropine. Choline in a concentration of $5 \cdot 10^{-6}$ M had no effect whereas concentrations of $5 \cdot 10^{-5}$ M were slightly effective.

[1] A. W. Forst und R. Deininger, Arch. exper. Path. Pharmakol. *215*, 378 (1952).

[2] A. Engelhardt, K. Greeff, P. Holtz und R. v. Luecken, Arch. exper. Path. Pharmakol. *221*, 506 (1954).

[3] R. J. S. Mc Dowall, J. Physiol. *106*, 1 (1947).

[4] Gegenwärtige Adresse: Department of Biochemistry, University of Cambridge, England.

Ein 24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte

Nachdem schon Ågren und seine Mitarbeiter[1] an weissen Ratten trotz gleichmässiger Nahrungszufuhr den Glykogengehalt der Leber zwischen 0,33 und 10% schwanken sahen, konnte schliesslich Forsgren[2] nachweisen, dass der Glykogengehalt der Kaninchenleber einem ganz bestimmten 24-Stunden-Rhythmus mit je einem Maximum um 2 h und 16 h und je einem Minimum um 10 h und 20 h folgt. In diesem Rhythmus wechselt also jeweils eine vorwiegend assimilatorische mit einer vorwiegend dissimilatorischen Phase ab. Diese grundlegenden Erkenntnisse Forsgrens wurden später an Hand umfangreicher Versuchsreihen nachgeprüft und für die Leber des Kaninchens[3], der Ratte[4] sowie der Maus[1] grundsätzlich bestätigt. Lediglich die Zeitpunkte der jeweiligen Maxima und Minima zeigen bei den einzelnen Tierarten gewisse Unterschiede, doch bleibt die grundsätzliche Tatsache des 24-Stunden-Rhythmus durchaus eindeutig bestehen. Dabei wurde auch die ebenfalls bereits schon von Forsgren[2] beobachtete weitgehende Unabhängigkeit des Leberglykogenrhythmus von der Nahrungsaufnahme bestätigt[1]. In den folgenden Jahren wurden schliesslich auch in anderen Organen[5], darunter in der Skelettmuskulatur[1], ähnliche rhythmische Schwankungen des Glykogengehaltes nach-

[1] E. Sachs und P. Heath, Arch. Ophthalm. *24*, 142 (1940).

[1] G. Ågren, O. Wilander und E. Jorpes, Biochem. J. *25*, 777 (1931).

[2] E. Forsgren, Scand. Arch. Physiol. *55*, 144 (1929); Klin. Wschr. *1*, 1110 (1929); Dtsch. med. Wschr. *21*, 737 (1938).

[3] H. v. Euler und A. Holmquist, Pflügers Arch. Physiol. *234*, 210 (1934). – T. Nordenskjöld und Mitarbeiter, Pflügers Arch. Physiol. *240*, 427 (1938).

[4] G. Ågren, O. Wilander und E. Jorpes, Biochem. J. *25*, 777 (1931). – H. Holmgren, Morph. Jb. *81*, 653 (1932). – A. Holmquist, Z. mikrosk.-anat. Forsch. *25*, 30 (1931).

[5] A. Jores, Erg. inn. Med. *48*, 574 (1935).

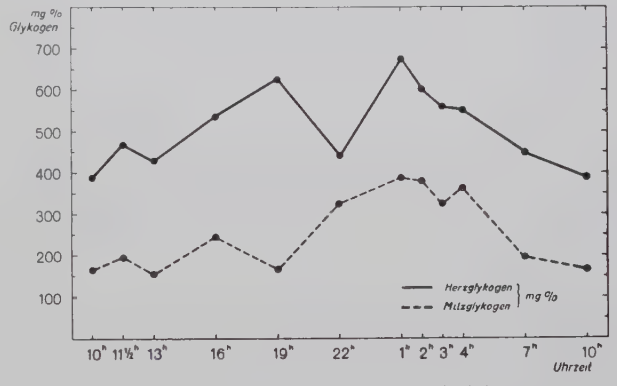
gewiesen. Nachdem endlich REIN[1] die enge Kopplung von Milz und Leber zu einem für den Herzmuskel besonders bedeutsamen Funktionssystem erkannt hatte, erschien es uns unbedingt erforderlich, die Frage eines eventuellen Glykogenrhythmus auch für Herzmuskel und Milz zu klären. Denn ihre Lösung ist natürlich für alle Aussagen und Schlüsse wichtig, die aus dem Glykogengehalt dieser beiden Organe unter den jeweiligen besonderen Bedingungen gezogen werden.

Wir bestimmten daher das Herzglykogen nach der seinerzeit besonders von SCHUMANN[2] in Anlehnung an das Pflügersche Prinzip entwickelten Methode, die sich allgemeiner Anerkennung erfreut und auch heute noch zweifellos als die exakteste hinsichtlich der im lebenden Organ tatsächlich herrschenden Verhältnisse gelten muss. Diese unbestrittene Überlegenheit der Technik SCHUMANNS beruht auf der von COBET[3] vorgeschlagenen sofortigen Fixation des exstirpierten Herzens in flüssiger Luft. Dadurch werden schlagartig alle weiteren chemischen Reaktionen gestoppt, so dass das so erhaltene Bild praktisch unverzerrt die im Leben herrschenden Verhältnisse widerspiegelt. Andere Methoden, die auf diese sofortige Fixation des Herzens verzichten, müssen zwangsläufig zu falschen Ergebnissen führen, da die Stoffwechselprozesse gerade in dem schnellschlagenden Rattenherzen natürlich auch noch nach seiner Entnahme aus dem Kreislauf weitergehen und daher notwendigerweise zu einer Senkung des anaeroben Energiekapitals führen müssen. GRUNKE, SCHUMANN und BÖHM[4] konnten daher nachweisen, dass der Glykogengehalt solcher Herzen schon innerhalb der ersten Minute nach der Tötung der Tiere um rund 90% des normalen Wertes vermindert war. Ferner beobachteten sie, dass das nichtfixierte Herz häufig sogar noch während der Einwaage in 60%iger Kalilauge Kontraktionen ausführte! In den ersten 15–20 s ist mit einer wesentlichen Abnahme des Herzglykogens dagegen nicht zu rechnen, und SCHUMANN[5] behauptet mit Recht, dass es nach einiger Übung nicht schwer sei, das Herz innerhalb von 10 s nach Eröffnen des Brustkorbes in flüssiger Luft zu fixieren.

Die nachstehenden Versuche wurden an weissen Laboratoriumsratten im Winterhalbjahr durchgeführt. Dabei wurden grundsätzlich nur männliche Tiere, stets vom gleichen Tierzüchter geliefert, und grundsätzlich nach 24stündiger Nahrungskarenz verwandt. Die Tötung erfolgte durch Nackenschlag. Danach schnelle Eröffnung des Thorax und sofortige Entnahme des Herzens und der Milz. Die Zeit von der Organentnahme bis zur Fixation wurde grundsätzlich von einer Hilfsperson mit der Stoppuhr kontrolliert und betrug für das Herz in keinem Fall mehr als 15 s und für die Milz mehr als 25 s. Um individuelle Schwankungen im Verhältnis Organgewicht zu Körpergewicht unberücksichtigt lassen zu können, wurden die erhaltenen Glykogenwerte jeweils auf 100 g Organgewicht (mg %) bezogen.

Gemeinsam mit MEYER[1] prüften wir diese Frage zunächst für die Milz der 24 h fastenden weissen Laboratoriumsratte und fanden tatsächlich einen ausgesprochenen Rhythmus mit einem maximalen Glykogengehalt von 365 ± 65 mg % zwischen 24 h und 4 h sowie mit einem zweiten, kleineren Maximum von 245 ± 36 mg % gegen 16 h. Die beiden Minima liegen dagegen mit Werten von 156 ± 39 mg % gegen 9 h und mit 167 ± 32 mg % gegen 19 h. Ein ganz ähnliches Ergebnis brachten auch unsere zusammen mit WEIGT[2] durchgeführten Bestimmungen des Herzglykogens der weissen Laboratoriumsratte. Hier fanden wir je ein Maximum um 19 h mit 623 ± 19 mg % und um 1 h mit 673 ± 37 mg %, sowie je ein Minimum um 10 h mit 388 ± 24 mg % und um 22 h mit 442 ± 20 mg %.

Die folgende Abbildung und Tabelle sollen nun einen Überblick über die einzelnen innerhalb von 24 h ermittelten Glykogenwerte in den genannten beiden Organen der weissen Laboratoriumsratte geben, die in den bereits erwähnten beiden Arbeiten[3] ausführlich abgeleitet, dargestellt und statistisch exakt gesichert sind.



24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte

Diesem von uns nunmehr auch für den Herzmuskel und die Milz der weissen Laboratoriumsratte nachgewiesenen 24-Stunden-Rhythmus des Glykogengehaltes

Uhrzeit	Mittlerer Glykogengehalt des Herzens mg %	Mittlerer Glykogengehalt der Milz mg %
1 h	673 ± 37	389 ± 92
2 h	603 ± 15	378 ± 46
3 h	560 ± 13	326 ± 45
4 h	552 ± 33	362 ± 34
7 h	447 ± 18	194 ± 51
10 h	388 ± 24	165 ± 25
11½ h	468 ± 15	196 ± 30
13 h	430 ± 30	156 ± 39
16 h	534 ± 20	245 ± 36
19 h	623 ± 19	167 ± 32
22 h	442 ± 20	326 ± 79

[1] H. REIN, Klin.Wschr., 873 (1942); Pflügers Arch. Physiol. *253*, 309, 435 (1951).

[2] W. GRUNKE, H. SCHUMANN und H. BÖHM, Z. exper. Med. *103*, 117 (1937). – H. SCHUMANN, Z. exper. Med. *106*, 14, 59 (1939); Pflügers Arch. Physiol. *243*, 686, 695 (1940); Erg. inn. Med. *62*, 869 (1942); Klin. Wschr., 593 (1944); *Der Muskelstoffwechsel des Herzens* (Verlag Steinkopff, Darmstadt 1950). – H. SCHUMANN und U. KÖHLER, Z. Kreislaufforsch. *37*, 65 (1945). – H. SCHUMANN und G. SCHÜRGER, Klin. Wschr. *24*, 595 (1947).

[3] R. COBET, zitiert bei U. KÖHLER, *Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Milz-Leber-Systems für den Herzmuskel*, Habilitationsschrift Halle a. d. S. 1955; Naturwissenschaften *42*, 447 (1955).

[4] W. GRUNKE, H. SCHUMANN und H. BÖHM, Z. exper. Med. *103*, 117 (1937).

[5] H. SCHUMANN, Z. exper. Med. *106*, 14, 59 (1939); Pflügers Arch. Physiol. *243*, 686, 695 (1940); Erg. inn. Med. *62*, 869 (1942); Klin. Wschr. 593 (1944); *Der Muskelstoffwechsel des Herzens* (Steinkopff, Darmstadt 1950). – H. SCHUMANN und U. KÖHLER, Z. Kreislaufforsch. *37*, 65 (1945). – H. SCHUMANN und G. SCHÜRGER, Klin. Wschr. *24*, 595 (1947).

[1] H.-J. MEYER, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1952.

[2] W. WEIGT, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1955.

[3] H.-J. MEYER, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1952. – W. WEIGT, Inaugural-Diss. Halle a. d. S. 1955.

kommt natürlich, wie eingangs schon angedeutet, nicht nur ein rein akademisches Interesse, sondern eine sehr wesentliche praktische Bedeutung zu. Es ist nämlich offensichtlich für die Deutung entsprechender Befunde durchaus nicht gleichgültig, zu welcher Tageszeit der ihnen zugrunde liegende Versuch durchgeführt worden ist. Demzufolge müssen die erhaltenen Glykogenwerte jeweils auf den für die Versuchszeit gültigen, mittleren Zeitwert bezogen werden, wie er aus der obenstehenden Abbildung bzw. Tabelle leicht zu entnehmen ist. Ob dieser Rhythmus zusätzlich von jahreszeitlichen Schwankungen überlagert wird, kann mit Sicherheit nicht gesagt werden, da entsprechende Untersuchungen an Ratten bisher noch nicht vorliegen. Eigene Arbeiten über den Glykogenstoffwechsel des Herzens[1], die zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt worden sind, berechtigen jedoch zu der Annahme, dass solche jahreszeitlichen Schwankungen, wenn sie bei Ratten überhaupt vorhanden sein sollten, nur geringfügig sein können und daher praktisch vernachlässigt werden dürfen.

U. Köhler

I. Medizinische Universitätsklinik Halle an der Saale, den 11. Juli 1955.

Summary

A definite 24-h rhythm was demonstrated in the glycogen content of heart muscle and of spleen of white laboratory rats, which makes it essential to take account of this fact when interpreting experimental results on these organs.

[1] U. Köhler, *Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Milz-Leber-Systems für den Herzmuskel*, Habilitationsschrift Halle a. d. Saale 1955; Naturwissenschaften *42*, 447 (1955).

Experimenteller Beitrag zur Frage von Nierenschäden bei Abusus von phenazetinhaltigen Schmerzmitteln

Von klinischer und pathologisch-anatomischer Seite (Spühler und Zollinger[1], Thoelen[2], Scheidegger[3], Zollinger[4], Scheidegger und Uehlinger[5]) wird über Nierenveränderungen bei jahrelangem Abusus von phenazetinhaltigen Analgetica berichtet. Diese Autoren beobachteten eine chronische, durch Zollinger[6] morphologisch näher charakterisierte interstitielle Nephritis, verbunden mit Einlagerung von Kalziumoxalatkristallen[7] in und um die Nierenkanälchen, wobei nach Zollinger[4] diese Kristallbildung nicht direkt mit dem Medikamentenabusus zusammenhängt.

Angesichts der einheitlichen Befunde der verschiedenen Untersucher stellt sich die Frage, ob bei fortgesetzter Überbelastung mit einem phenazetinhaltigen Analgeticum regelmässig Nierenveränderungen auftreten, ob somit die am Menschen beobachtete chronische interstitielle Nephritis Ausdruck eines gesetzmässig bei Überdosierung auftretenden Gewebsschadens darstellt. Zur Bearbeitung dieser Frage eignet sich der Tierversuch, obwohl bei der Übertragung der Resultate auf den Menschen grosse Zurückhaltung am Platze ist.

Wir untersuchten an Ratten die chronisch-toxischen Eigenschaften des Analgeticums Saridon[1] bzw. seiner Wirkstoffkomponenten und dosierten das Präparat entsprechend einer täglichen Riesendosis von 60 Tabletten für einen Menschen von 50 kg Körpergewicht. Insgesamt 50 weibliche, 90–98 g schwere Ratten erhielten in Gruppen von 10 Tieren *per os* mit der Schlundsonde an 5 Tagen der Woche:

1-Phenyl-2,3-dimethyl-4-isopropyl-5-pyrazolon .	180 mg/kg
Azet-p-phenetidin (Phenazetin)	300 mg/kg
3,3-Diäthyl-2,4-dioxo-tetrahydropyridin . . .	60 mg/kg
1,3,7-Trimethyl-2,6-dioxypurin (Coffein) . . .	60 mg/kg
Saridon-Mischung (entspricht Wirkstoffmischung 500 mg/kg) . . .	600 mg/kg

Der Versuch wurde nach 6½ Monaten mit 32 überlebenden Ratten abgebrochen. Die einzelnen Gruppen nahmen recht gleichmässig an Gewicht zu, am wenigsten die Phenazetin-Gruppe mit +128 g, am meisten die Saridon-Gruppe mit +137 g. Die hohe Mortalität von 18 Tieren während des Versuches ist auf interkurrente, durch die lange Sondenfütterung bedingte Erkrankungen zurückzuführen. Hämatologisch waren nach 11 Wochen keine Leukopenie oder Veränderung des Differentialblutbildes, keine Abnahme der Erythrozytenzahl oder des Hämoglobin festzustellen. Vereinzelt wurden Polychromasie und Howell-Jolly-Körperchen beobachtet; Innenkörper kamen nicht vor. Der Urin zeigte bei wiederholten Kontrollen ausser vereinzelten Erythrozyten und Leukozyten keine pathologischen Beimengungen, insbesondere keine Oxalatkristalle. Oxalsäure wurde nicht vermehrt ausgeschieden (0,7–1,2 mg pro Ratte in 24 h)[2].

Bei der histopathologischen Untersuchung waren nach 6½ Monaten Versuchsdauer in Lunge, Leber, Nebenniere und Knochenmark keine krankhaften Veränderungen aufzufinden. In allen Versuchsgruppen zeigte die Milz einzelner Tiere eine leichte Vermehrung des Hämosiderins. In der Niere waren die Tubulusepithelien in geringem Grade trüb geschwollen, die Glomerula zart. Interstitielle Infiltrate oder Ablagerungen von Oxalatkristallen kamen nicht vor, auch nicht bei interkurrent eingegangenen Tieren. Somit fehlen bei der Ratte trotz monatelanger Überdosierung mit Saridon und seinen Komponenten Veränderungen, die in Analogie zu der beim Menschen beobachteten chronischen interstitiellen Nephritis zu setzen wären. Es könnte dies – wenn man von den «Spezies»-Unterschieden absieht – daran liegen, dass die Belastung mit Saridon an nierengesunden Tieren vorgenommen wurde. Zur Zeit wird von uns die Frage bearbeitet, ob bei zusätzlicher funktioneller Nierenbelastung oder in experimentell vorgeschädigten Nieren Saridon charakteristische morphologische Veränderungen auszulösen vermag. Es wird somit modellmässig nach einem prädisponierenden Faktor gesucht.

A. Studer und G. Zbinden

Medizinische Laboratorien der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. Basel, den 10. September 1955.

[1] O. Spühler und H. U. Zollinger, Z. klin. Med. *151*, 1 (1953).
[2] H. Thoelen, Schweiz. med. Wschr. *84*, 963 (1954).
[3] S. Scheidegger, Demonstrationsabend vom 26. Mai 1955 für die Ärzte von Basel und Umgebung.
[4] H. U. Zollinger, Schweiz. med. Wschr. *85*, 746 (1955).
[5] S. Scheidegger und E. Uehlinger, Persönliche Mitteilung, Veröffentlichung in Vorbereitung.
[6] H. U. Zollinger, *Die interstitielle Nephritis* (Verlag S. Karger, Basel 1945).
[7] Kristallographisch identifiziert durch H. Waldmann.

[1] Eingetragene Marke.
[2] Mikroanalytische Bestimmungen durch J. Würsch.

Summary

In view of the chronic interstitial nephritis observed in man after years of abuse of phenacetin-containing analgesics, rats were subjected to oral loading-tests with Saridon and its active components. It was not possible, however, to induce interstitial nephritis experimentally. Trials with Saridon will be continued on rats having undergone additional renal loading-tests and in which renal damage has been previously induced.

Responses of the Middle-ear Muscles to Neuromuscular Blocking Agents

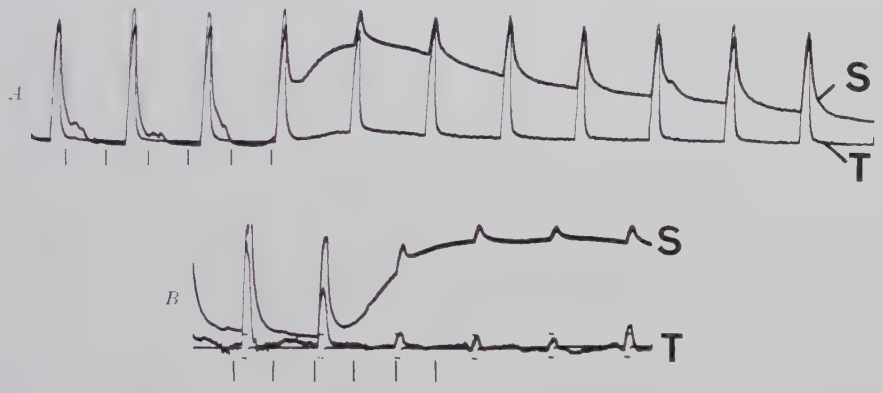
To facilitate physiological and pharmacological studies on the middle-ear muscles, methods have been developed for recording their contractions under practically isometric conditions. The muscles are stimulated either reflexly from the opposite ear by means of pure tones, or, in the case of musculus stapedius, by electrical stimulation of the facial nerve. The contractions are recorded by means of RCA 5734 transducer tubes carrying small hooks into which the tendons are slipped. In the records shown below the crura of the stapes had been fractured, only the head remaining in contact with the tendon. Similarly the tendon of musculus tensor tympani was left in contact with a part of the malleus, from which the head and the manubrium had been removed. In addition to electrical recording, and in order to distinguish artefacts in the records due to movements of the animal, the muscles were also observed microscopically with a heliometer device. The experiments were performed on rabbits, weighing 2–2·4 kg.

The Figure shows simultaneous records of musculus tensor tympani and musculus stapedius. The contralateral ear was stimulated by means of 1000 cps tone-pips recurring every 2 s, the duration of each pip being 0·2 s. The intensity was adjusted to exceed that required to produce maximum reflex contractions. Pentobarbitone, 30 mg/kg body weight, was used for anaesthesia. At the beginning of record *A* an injection of 0·15 mg of succinylcholine-iodide in 0·2 ml of saline into the jugular vein had just been finished. The record shows a marked tonic contraction of the stapedius muscle with very little effect on the tensor tympani. In other experiments a similar or larger dose of succinylcholine produced almost complete paralysis of the tensor tympani simultaneously with the maximum tonic contraction of the stapedius muscle (Fig. *B*, 0·4 mg succinylcholine-iodide). Usually the tonic contraction starts while the muscle is still able to respond normally to reflex stimuli. Sometimes, however, almost complete block was seen before the tonic contraction occured. As a rule the sum of the tonic and the superimposed reflex contractions was somewhat larger than the normal reflex contraction alone. In some experiments no reflex contraction could be seen at the peak of the tonic contraction.

The tonic contractions of musculus stapedius are not prevented by blocking or cutting of its nerve. Decamethonium has the same effect as succinylcholine.

Injection of about 0·1 mg succinylcholine or decamethonium is followed by tonic contraction of musculus stapedius lasting about 1 min. The effect on musculus tensor tympani is considerably shorter.

D-tubocurarine gives no tonic contraction, but blocks musculus stapedius more readily than musculus tensor tympani. On the other hand, this block of musculus stapedius is more easily reversed by succinylcholine than that of the tensor tympani. The de-blocking of the stapedius muscle by succinylcholine is accompanied by a strong tonic contraction.



Contractions of musculus stapedius (*S*) and musculus tensor tympani (*T*) during rhythmic reflex stimulation and after the intravenous injection of succinylcholine-iodide (*A*: 0·15 mg, *B*: 0·40 mg). The tracings which read from left to right start at the end of the injection. Time in seconds. The maximum contractions recorded are about 3 g.

The reactions of musculus stapedius to succinylcholine and decamethonium resemble those of the extra-ocular muscles described by Hofmann and Lembeck[1].

Details of these and further experiments will be published in Acta Otolaryngologica.

R. Wersäll

Department of Pharmacology, University of Upsala, August 21, 1955.

Zusammenfassung

Unter Benutzung der Röhre RCA 5734 wurde ein isometrischer Myograph zum Studium der Physiologie und Pharmakologie der Mittelohrmuskeln entwickelt. Die Muskeln wurden durch kontra-laterale Tonstösse und im Falle des musculus stapedius durch elektrische Reizung ihres Nerven erregt.

Beim Kaninchen verursachten Succinylcholin und Dekamethonium eine tonische Kontraktion des musculus stapedius, dagegen nicht des musculus tensor tympani. d-Tubocurarin blockiert den musculus stapedius eher als den musculus tensor tympani, ruft aber keine tonische Kontraktion hervor.

[1] H. Hofmann and F. Lembeck, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *216*, 552 (1952).

Fehlende ganglionäre (nikotinische) Wirkung des Muscarins

Muscarin besitzt in kleineren bis mittleren Dosen eine seit langem bekannte periphere parasympathomimetische Wirkung, wie wir kürzlich mit reinem Muscarinchlorid bestätigen konnten[1]. Diese Wirkung ist stärker als die des Azetylcholins, beschränkt sich aber auf die visceralen autonomen Endigungen, ohne irgendwelche Einwirkung auf ganglionäre Synapsen oder Endplatten. Die *cholinergische* Wirkung wird oft in zwei Komponenten geteilt: der peripher *muscarinische* Effekt wird meistens an der Blutdrucksenkung, Herzfrequenzverlangsamung oder Kontraktion eines isolierten Darmstückes gemessen, die *nikotinische* Wirkung auf die ganglionären Schaltstellen im stimulierenden Stadium durch Blutdrucksteigerung und folgenden Abfall, Pulsanstieg, verstärkte Darmbewegungen, bei höheren Dosen im darauffolgenden Lähmungsstadium durch Fehlen von vasomotorischen Effekten, Paralyse der glatten und Skelettmuskulatur und Blockierung präganglionärer Reizung. Diese Trennung der cholinergischen Wirkungsqualitäten wird heute von zahlreichen Autoren übernommen. Es ist aber sicher verwirrend, einen so komplexen Begriff, über dessen Bedeutung im autonomen Nervensystem heute keineswegs Klarheit besteht, in zwei noch weniger gut definierte Wirkungseinheiten zu unterteilen. Insbesondere wurde früher Muscarin meistens mit Cholin verunreinigt und als unbeständiges Alkaloid in unreiner, schwach wirksamer Form untersucht, oft auch durch sogenanntes «synthetisches Muscarin» $(CH_3)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2ONO$ (Cholinnitrit) ersetzt. Jonescu[2], Honda[3] und Loewi[4] sahen bei Fröschen, Schott[5] und Loewi[4] bei Kaninchen und Katzen, Weinzweig[6] bei Hunden eine nach 2–8 min nicht regelmässig eintretende nikotinähnliche Reizung oder Lähmung des Vagus.

Da uns eine grössere Menge reines Muscarinchlorid, welches aus Fliegenpilzen gewonnen worden war, zur Verfügung stand, untersuchten wir die Wirkung an der Katze mit besonderer Aufmerksamkeit für ganglionäre autonome Effekte.

a) *Kleine Dosen* (0,005–0,1 μg/kg): Die kleinste Dosis mit deutlicher Blutdruckwirkung betrug durchschnittlich 0,005 μg/kg. Sie war etwa halb so klein wie die entsprechende minimal wirksame Azetylcholindosis (0,01 bis 0,02 μg/kg). Bei diesen Mengen ist keine weitere Wirkung am Ganztier zu beobachten. Cholinesterasehemmer (0,14 mg/kg Prostigmin) vermindern die minimal wirksame Dosis weiterhin um das 10fache, wobei die Azetylcholinwirkung gleichzeitig um das 100fache gesteigert wird (Minimaldosis 0,0002 μg/kg). Nach Atropin wird durch Prostigmin nur die Azetylcholinwirkung 10fach gesteigert.

b) *Mittlere bis grosse Dosen* (0,1–10,0 μg/kg): Die Blutdrucksenkung wird als auffälligster Effekt immer stärker, bei 1–10 μg/kg maximal; sie wird durch Vagotomie nicht verändert. Die Herzfrequenz ist so stark verlangsamt, dass der Herzstillstand droht, wenn diese Wirkung nicht durch Atropin antagonisiert wird (Abb. 1). Nach Atropin bewirkt Muscarin in mittleren Dosen einen mehr oder weniger ausgeprägten Blutdruckabfall, aber nie einen Blutdruckanstieg. Die Atmung wird verstärkt durch Dosen über 0,02 μg/kg und nach Injektion > 1 μg/kg durch Bronchokonstriktion bis zum Stillstand vermindert (Abb. 1). Hier braucht es für die gleiche Wirkung etwa 5mal mehr Azetylcholin. Die Zuckungen des *Musculus gastrocnemius* nach Reizung des *Nervus ischiadicus* (*pars tibialis*) werden nicht verkleinert. Der Sympathicus bleibt ebenfalls funktionstüchtig, da die Nickhautkontraktionen nach präganglionärer Stimulierung (*Ganglion cervicale superius*) gleich bleiben. Nach 1 μg/kg und besonders nach 5–10 μg/kg Muscarin kontrahiert sich die Nickhaut langsam, eventuell infolge Reizung der ganglionären Synapsen, da die *Membrana nictitans* nur sympathische Endigungen enthält. Durch kleine Mengen Atropin (50 μg/kg) wird diese Kontraktion jedoch gelöst, wodurch der periphere Wirkungsort

[1] C. H. Eugster und P. G. Waser, Exper. *10*, 298 (1954).
[2] D. Jonescu, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *60*, 154 (1909).
[3] J. Honda, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *64*, 72 (1911).
[4] O. Loewi, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *70*, 323, 343, 351 (1912).
[5] E. Schott, Arch. exper. Pathol. Pharmakol. *65*, 239 (1911).
[6] H. Weinzweig, Arch. Anat. Physiol. *1882*, 527.

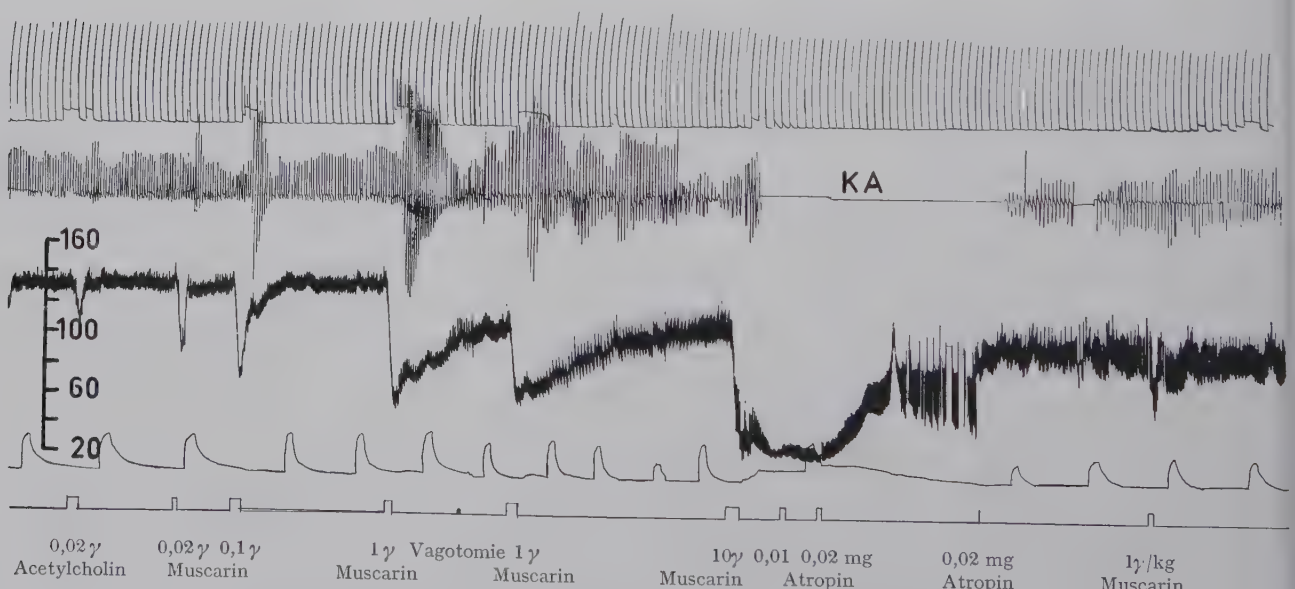


Abb. 1. Katze in Dial-Nembutal-Narkose. Kurven von oben nach unten: Gastrocnemiuskontraktionen alle 15 s, Atmung (*KA* = künstliche Atmung), Carotisblutdruck in mm Hg, Nickhautkontraktionen, Signal. Alle Dosen in $\gamma = \mu$g/kg Muscarinchlorid, mg/kg Atropinsulfat.

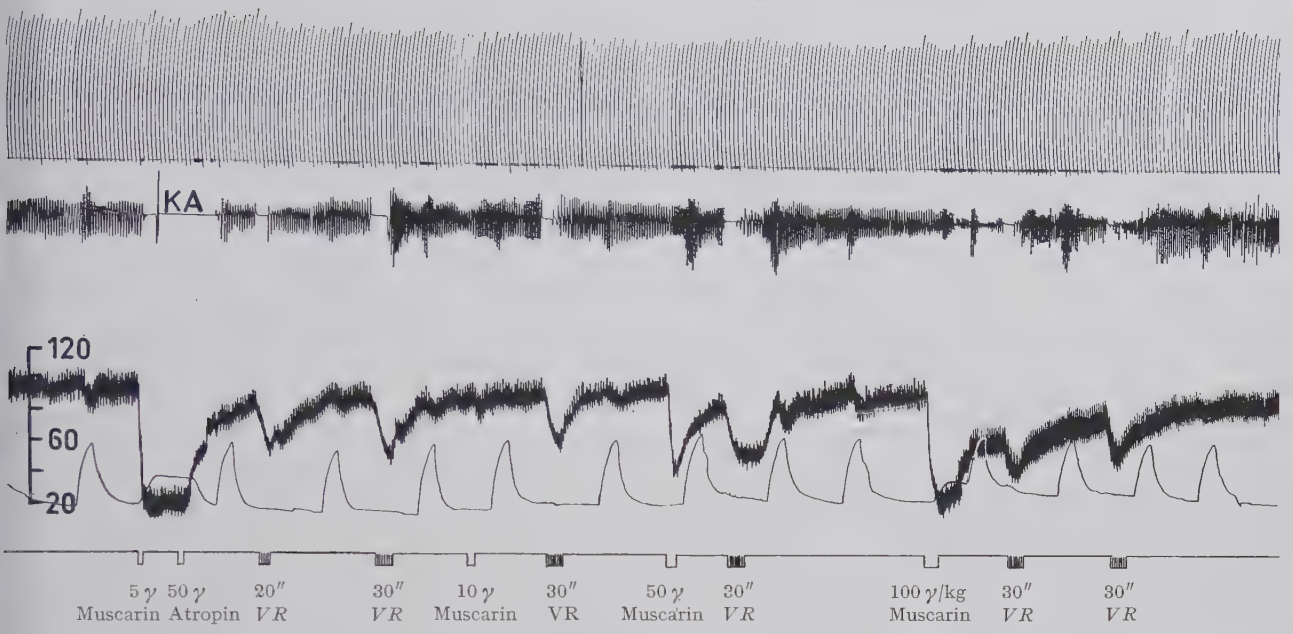


Abb. 2. Katze in Dial-Nembutal-Narkose. *VR* = Vagusreiz während 20 oder 30 s. Dosen ebenfalls in γ = μg/kg Katzengewicht. Muskelzuckungen alle 7,5 s.

demonstriert ist (Abb. 1 und 2). Atropin hat erst bei hohen Dosen eine ganglionhemmende Wirkung; KONZETT und ROTHLIN[1] blockierten das isolierte *Ganglion cervicale superius* mit 0,5–5 μg. Auch der Parasympathicus ist nicht beeinträchtigt: eine vagal durch präganglionäre Reizung ausgelöste Blutdrucksenkung wird zu der durch Muscarin bewirkten Depression addiert (Abb. 2). Innerhalb einiger Minuten wiederholte Injektionen der gleichen Dosis haben keine kumulativen Effekte zur Folge (Abb. 1).

c) *Sehr grosse Dosen* ($>$ 10 μg/kg) können nur beim atropinisierten Tier untersucht werden, um die letale, peripher parasympathomimetische Wirkung zu unterdrücken. Meistens mussten wir auch künstlich beatmen. Atropin antagonisiert eine proportionale Muscarindosis (etwa $^1/_{100}$) in der Blutdruckwirkung. Grössere Muscarinmengen oder Vagusreizung senken den Druck immer noch bedeutend. Die Synapsen der sympathischen Ganglien sind in ihrer Überleitung unverändert. Bei Vagusreizung nach wiederholten grossen Dosen (10–100 μg/kg) zeigt sich eine immer gleichbleibende Blutdrucksenkung, Herzschlagverlangsamung und Atmungsstillstand (Abb. 2).

Zusammenfassend stellen wir fest, dass Muscarin in Dosen, wie sie vom Ganztier noch ertragen werden, eine rein periphere parasympathomimetische Wirkung hat. Auch nach sehr grossen Dosen (bis 20 000fache minimale Wirkungsdosis) werden beim atropinisierten Tier weder vagale noch sympathische Ganglien blockiert, und die Muskelendplatten bleiben voll funktionstüchtig. Muscarin hat demnach keine «nikotinische» Wirkung, sondern ist (bis 100 μg/kg) elektiv an den parasympathischen Endigungen wirksam. Die früher wiederholt beschriebene «Vaguslähmung» muss eine Folge der Verunreinigung mit Cholin und anderen (quartären?) Basen sein.

Cholinesterasehemmung verstärkt die Muscarinwirkung um das 10fache, vielleicht weil ein Ester des Muscarins (Azetylmuscarin?) im Körper wirksam ist. Ein rascher enzymatischer Abbau ist auch durch die kurzdauernde Wirkung und das Fehlen von Kumulation wahrscheinlich.

[1] H. KONZETT und E. ROTHLIN, Helv. physiol. Acta *7*, C 46 (1949).

Für die Unterstützung dieser Arbeit danken wir der Fritz-Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz sowie Herrn PD. Dr. C. H. EUGSTER für die Überlassung von Muscarinchlorid.

P. G. WASER

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich, den 24. August 1955.

Summary

High doses of Muscarine have only peripheral parasympathomimetic action in the cat. Even with toxic doses (up to 100 μg/kg) the atropinized animal shows no blockade of sympathetic and parasympathetic ganglia or nerve-muscle transmission. Inhibition of Cholinesterase enhances Muscarine activity tenfold, suggesting that Muscarine is transformed in the body into an active Acetylester.

The Effect of Xylocain in Electric Convulsive Treatment

In recent investigations on "experimental epilepsy', it was shown by BERNHARD and BOHM[1] that intravenous injections of local anaesthetic shorten or abolish the cortical after-discharge evoked by repetitive electrical stimulation of the cortex depending on the dose. On the basis of animal experiments, the effect of xylocain was later investigated in epileptics, and it was shown that epileptic fits of grand mal type or Jackson type could be arrested by intravenously injected xylocain[2]. The electroencephalographically recorded convulsive activity evoked by photic stimulation in epileptics may also be blocked by xylocain[3]. No untoward reactions

[1] C. G. BERNHARD and E. BOHM, Acta physiol. Scand. *31* [suppl. 114], 5 (1954); Exper. *9*, 474 (1954); Brit. J. Pharmacol. *10*, 288 (1955).

[2] C. G. BERNHARD and E. BOHM, Acta physiol. Scand. *31* [suppl. 114], 5 (1954); Exper. *9*, 474 (1954). – C. G. BERNHARD, E. BOHM, and S. HÖJEBERG, Arch. Neurol. Psychiat. Chicago, *74*, 208 (1955).

[3] C. G. BERNHARD, E. BOHM, S. HÖJEBERG, and K. A. MELIN, Acta psychiat. Kbh. (in press).

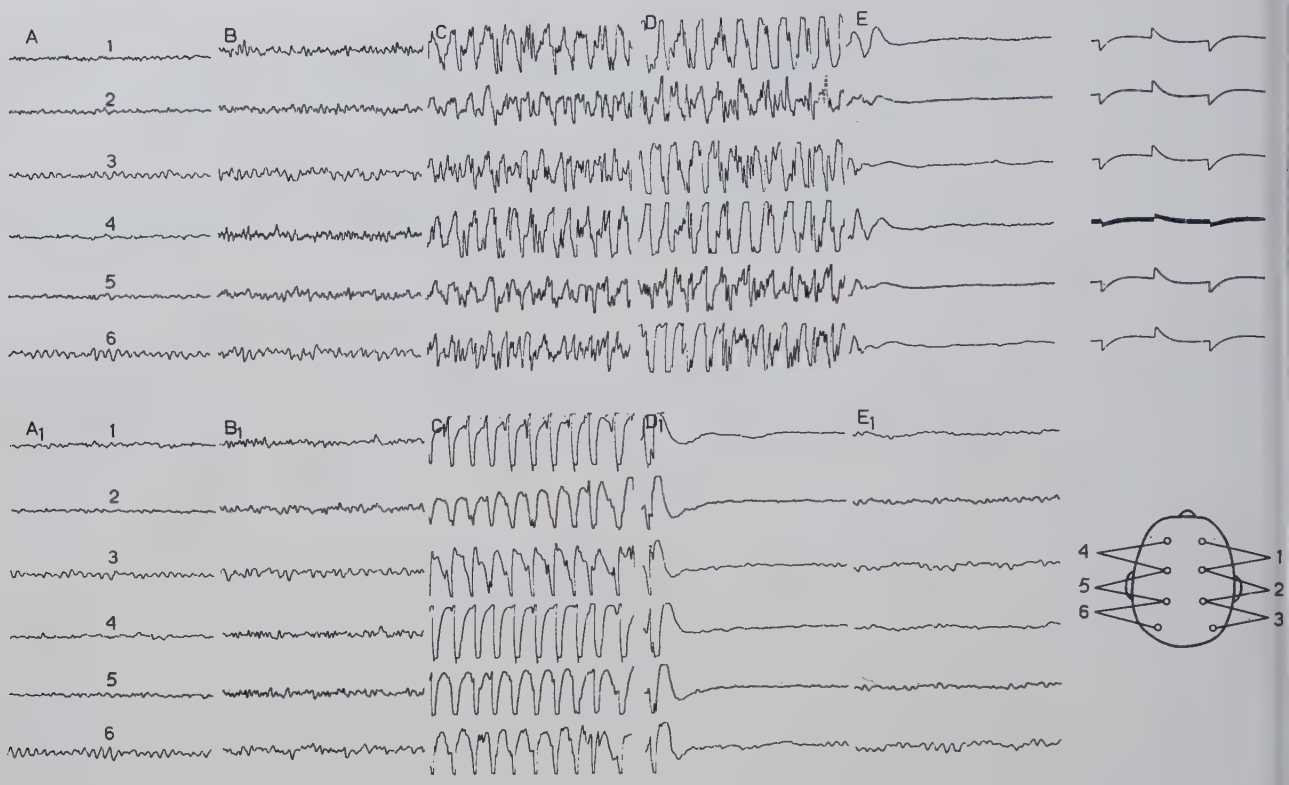


Fig. 1.–EEG. during the course of an electric convulsive treatment without (A–E) and with (A_1–E_1) an intravenous of 3 mg Xylocain per kg 2 min before the shock was elicited.. The after-discharge is reduced to 25% of its previous duration. For further description see text. Calibration 50 μV.

were noticed. Contrary to general belief, there was no sign of xylocain acting as a convulsive agent. The duration of the anticonvulsive effect in humans after single intravenous injections of xylocain was about ½ h with the doses used.

The investigations referred to provide a basis for an examination of the effect of xylocain in electric convulsive treatment. The present investigation comprises a series of 25 injections in 10 patients; and it has been found that xylocain shortens the duration of the cortical after-

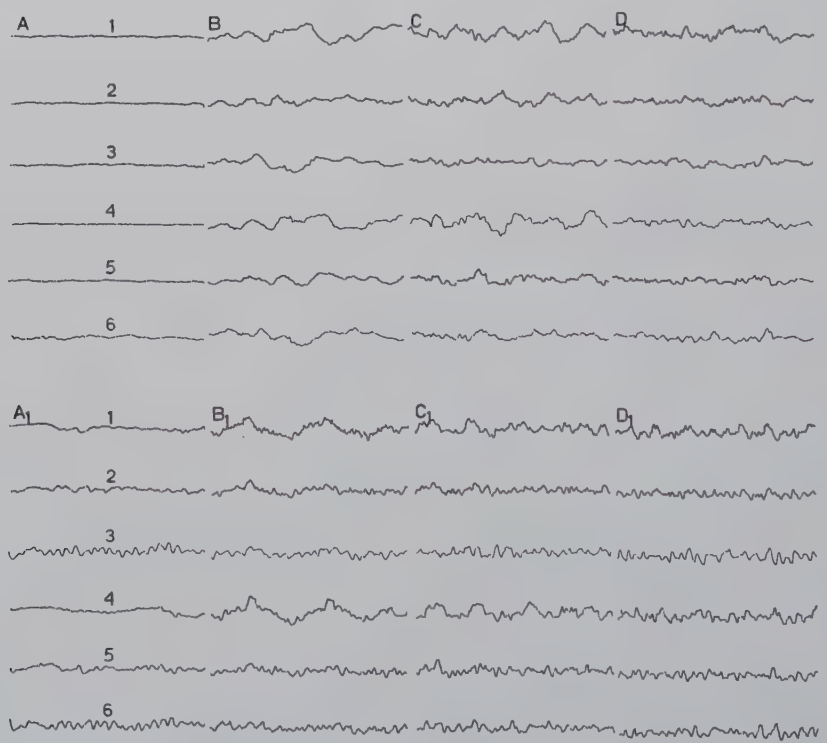


Fig. 2.–Post-epileptic EEG. at various intervals after the end of a spontaneously terminated after-discharge (upper row) and an after-discharge shortened by Xylocain (lower row). Further description see text.

discharge principally in the same way as in the animal experiments.

In all treatments the patients were given a light evipan anaesthesia (5 mg/kg), saturated with oxygen and paralyzed by an adequate dose of succinylcholine iodide. The shock was delivered by a "Konvulsator III" according to v. Braunmühl. The cerebral electrical activity was recorded by a six-channel Grass electroencephalograph. The position of the recording electrodes are shown in Figure 1. One or two treatments were first given without xylocain in order to estimate the duration of the post-stimulatory cortical after-discharge, which was found to be fairly constant from treatment to treatment in the same patient. The dose of intravenously injected xylocain ranged between 2–4 mg/kg and a supramaximal shock was delivered 2 min after the end of the injection. The dosis of xylocain ranged between 2–4 mg/kg injected intravenously during 1 min and a supramaximal shock was delivered 2 min after the end of the injection.

Figure 1 *A–E* show the electroencephalograms during the course of an unmodified treatment. Record *A* shows the EEG. prior to any injections. Evipan and succinylcholine were then administered and record *B* shows the EEG. immediately before the shock. The shock was then delivered through bitemporal electrodes and the following records (*C* and *D*) show the after-discharge 10 s (*C*), and 25 s (*D*), after the cessation of the repetitive stimulation. Record *E* shows the spontaneous cessation of the cortical after-discharge and the post-epileptic depression of the cortical activity 1 min 40 s after the end of the shock.

Records A_1–E_1 in Figure 1 are from the same patient and show the effect of an intravenous injection of 3 mg xylocain per kilogramme. The extracts from the EEG. are taken at the same intervals. Record C_1 shows the convulsive activity which is more regular and monotonous than in the corresponding curve above. Record D_1 shows that the after-discharge was blocked 25 s after the end of the stimulus. In record E_1 there is already a restitution of pre-treatment activity.

In the present series the duration of the after-discharge was reduced by 60–80% following pre-treatment administration of xylocain. There was no certain tendency to a greater effect when the dosage of xylocain was increased to 4 mg/kg.

The EEG. was regularly followed for 30 min after the shock. In Figure 2 the EEG. is shown immediately after (*A*; A_1) and 3 (*B*; B_1), 10 (*C*; C_1) and 20 min (*D*; D_1) after the end of the after-discharge without (upper row: *A–D*) and with (lower row: A_1–D_1) xylocain. Without xylocain, there was a greater degree of depression of the cortical activity following upon the longer after-discharge than after a xylocain injection, and probably a more pronounced dysrhythmia with slow waves.

There were no complications and no complaints from the patients which could be ascribed to the xylocain treatment. It should be pointed out, however, that the intravenous use of the drug must be handled with great care until more experience has been collected.

The experiments were made in order to elucidate the significance of the after-discharge for the clinical effects of electric convulsive treatment.

J. O. Ottosson

Physiological Department II, Karolinska Institutet and Psychiatric Clinic, Karolinska Sjukhuset, Stockholm, June 15, 1955.

Zusammenfassung

Es hat sich gezeigt, dass Xylocain in kleinen intravenösen Dosen die epileptiformen Nachentladungen bei Elektroschockbehandlung abkürzen kann. Die Untersuchungen werden fortgesetzt, um die Bedeutung der Nachentladungen für die klinischen Effekte der Elektroschockbehandlung zu beleuchten.

Insulin and its Possible Role in the Artificial Hibernation

Artificial hypothermia or hibernation has been studied during recent years as a means of reducing the oxygen consumption of the tissues and thus allowing surgical treatment of various cardiac and vascular diseases. It is known, however, that the decrease of body temperature in the homeothermic organism is constantly followed by metabolic and cellular changes of importance. The need was therefore emphasized of reducing such disadvantages by various techniques and drugs[1]. Substances with a ganglioplegic action have acquired a special importance in this field. Such drugs reduce the changes produced by the body hypothermia but do not prevent some of the reactions of the homeotherm to the hibernation.

In fact, in animals treated with such drugs, some rather important changes of certain physiological constants have been observed (glycaemia, lipaemia, heart rate, endocrine activity), as well as the presence of shivering and shock post-hibernation, which has not yet been given a clinical or experimental explanation[2]. As a matter of fact, a homeotherm organism reacts to any decrease of body temperature with an increased metabolic rate and an increase of the organic combustions with the object of keeping its own temperature constant. In this way not only its lipidic and glycidic reserves but also the proteic ones and its enzymatic patrimony are wasted.

Having regard to these facts, it seems to us that the ganglioplegics are not sufficient to prevent the dangerous increase of organic combustions, and that it is therefore necessary to act directly on the cellular metabolism by means of some substances possessing an antagonistic action on the hormones of which production is stimulated by hypothermia. Our attention was drawn to insulin.

In fact, insulin decreases the blood sugar, increases the hepatic and muscle glycogen (which disappears rapidly with the hypothermia), favours lipogenesis, diminishes the use of O_2 by the tissues, showing a clear anabolic and hypothermic action. Such a conception has also been supported by the fact that in the hibernant

[1] W. G. Bigelow, J. C. Callaghan, and J. A. Hopps, Ann. Surg. *132*, 531 (1950). – W. G. Bigelow, W. K. Lindsay, and W. F. Greenwood, Ann. Surg. *132*, 849 (1950). – A. Bobbio, G. Ital. Anest. *18*, 560 (1952). – I. Boerema, Arch. Chir. Neerland. *3*, 25 (1951). – H. Laborit and P. Huguenard, *Pratique de l'hibernothérapie en chirurgie et en médecine* (Masson Ed., Paris 1954).

[2] W. G. Bigelow, J. C. Callaghan, and J. A. Hopps, Ann. Surg. *132*, 531 (1950). – W. G. Bigelow, W. K. Lindsay, and W. F. Greenwood, Ann. Surg. *132*, 849 (1950). – W. G. Bigelow, W. K. Lindsay, R. C. Harrison, R. A. Gordon, and W. F. Greenwood, Amer. J. Physiol. *160*, 125 (1950). – A. Bobbio, Boll. Soc. Piemont. Chir. *23*, 4 (1953). – E. Ciocatto and A. D. Cattaneo, Min. Anestes. *19*, 285 (1953). – E. Ciocatto, L. Solerio, A. D. Cattaneo, and E. Fava, Min. Anestes. *19*, 5 (1953). – P. V. Forni, E. Ciocatto, E. Adaglio, and E. Bianchetti, Boll. Soc. Piemont. Chir. *22*, 661 (1952). – H. Laborit and P. Huguenard, *Pratique de l'hibernothérapie en chirurgie et en médecine* (Masson Ed., Paris 1954). – G. Nicolosi, Soc. Sicil. Chir., Seduta del 7 febbr. 1953.

animals (hedge-hog, hamster, etc.) the physiological decrease of their body temperature during the winter lethargy is accompanied by a hyperactivity of the endocrine pancreas, by an hypertrophy of the islands of Langerhans and an increase of the β-cells, by a strong hypoglycaemia, and by a decrease in thyroid, hypophysis and adrenal gland activity[1].

Experiments were made[2] on rabbits and dogs in order to study first of all the hypothermic action of insulin, of ganglioplegics and of both these substances used together; and secondly to study the behaviour of the animals hibernated in insulinic hypoglycaemia.

The experiments were made on 64 rabbits and on 21 dogs. The animals were divided into two groups, those of the first group were kept at room temperature while the animals of the second group were hibernated at 20–24°C with pads containing a refrigerated alcohol solution at — 5– — 10°C.

The results obtained may be thus summarized:

(A) *Animals kept at room temperature*

(1) In rabbits treated with 5 U. of insulin we noticed a decrease of temperature 0·6–4·5°C. Almost all animals showed hypoglycaemic convulsions.

(2) In rabbits treated with a cocktail of autonomic blocking agents (mefedina 0·5 mg, fargan 0·25 mg, largactil 2 mg pro kg of weight) we noticed a decrease of temperature of 0·5–2°C.

(3) The hypothermia was remarkably increased by adding insulin to the cocktail with ganglioplegic action. In animals thus treated we noticed a decrease of temperature of 4·4–7·7°C. In these animals, after administering glucose, a rapid return of the temperature to the normal values was noticed; which did not happen in animals treated with ganglioplegics only.

(B) *Refrigerated animals*

(1) No remarkable difference in speed of the lowering of temperature was noticed whether the animals had been hibernated in hypoglycaemia or not. This is probably due to the severity of the cooling (enormous number of calories drawn from the cold pads) and also to its speed (40 min to 1 h for the rabbits; 1–3 h for the dogs). It was instead constantly observed that if two animals were hibernated at the same time, and therefore kept under the same experimental conditions, the one treated with insulin and ganglioplegics reached temperatures of some degrees lower than the control animal treated with ganglioplegics only.

(2) The animals cooled after having been treated with insulin and ganglioplegics never showed tremor or shivering, in contrast to what was seen in those treated with ganglioplegics only.

(3) The temperature of the animals treated with insulin and ganglioplegics reached lower levels, and for a longer period of time, than that of the controls, the heating being also more rapid after the administration of glucose.

(4) Although the animals cooled with insulin had very low blood sugar, hypoglycaemic convulsions were never noticed below 28°C.

(5) The animals treated with insulin and ganglioplegics never showed shock after hibernation. The awakening was always very rapid at a body temperature of 29–34°C for rabbits, and of 34–36°C for dogs. Even before reaching the normal temperature, the animals took food eagerly and walked spontaneously. A few hours after the hibernation it was hard to recognize the animals hibernated with insulin and ganglioplegics from those that had not undergone any experiment.

Such results, even though briefly described, seem sufficient to show the importance of insulin in the experimental hypothermia. It is possible that combining insulin with the ganglioplegics may succeed in almost completely abolishing the harm produced by the lowering of the body temperature, by inhibiting the increase of the organic combustions at the level of the individual cells and thus protecting them from that hypermetabolism "a frigore" which is so harmful to them.

L. Vegni and C. Prior

Institute of General Surgery, University of Siena, August 20, 1955.

Riassunto

Gli autori hanno studiato la possibilità di facilitare l'ipotermia degli omeotermi mediante l'insulina. Hanno osservato che gli animali ibernati in ipoglicemia insulinica non presentano mai chok post-perfrigerazione, che il risveglio è sempre molto rapido e che l'ibernazione ha un decorso molto più soddisfacente dei controlli non trattati con insulina.

[1] C. H. Kayser, Ann. Biol. *29*, 109 (1953).

[2] C. Prior and L. Vegni, Gazz. Int. Med. Chir. *59*, 1185 (1954). – C. Prior, L. Vegni, and I. Bacchini, Gazz. Int. Med. Chir. *59*, 1244 (1954). – C. Prior and L. Vegni, Presse Med. *63*, 824 (1955). – L. Vegni and C. Prior, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *30*, 780 (1954); Gazz. Int. Med. Chir. *59*, 1068 (1954).

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

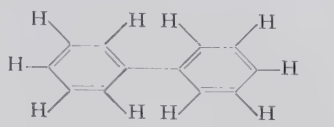
The Labile Stereochemistry of Conjugated Systems[1]

By E. A. Braude, London[2]

Classical conjugated systems, i.e. those containing alternating single and multiple bonds, have long occupied a prominent place in Organic Chemistry, both for their factual importance and their theoretical interest. Although the stereochemistry of such systems has been extensively studied, it is only in the case of simple benzenoid compounds, however, that the disposition of the atoms in space may be claimed to have been fully elucidated. The quantitative solution of this problem was achieved by the methods of X-ray and electron diffraction, and of ultraviolet and infrared spectroscopy, and was greatly facilitated by the flatness, symmetry and rigidity of the benzene molecule and many of its derivatives.

Other conjugated systems present considerably greater difficulties to precise analysis for several reasons. The most important of these is that, whereas benzenoid systems approach in varying degrees the state of "perfect" conjugation which exists in benzene itself and in which all the conjugated bonds posses the same amount of double-bond character, electronic interaction in other types of conjugated systems is usually far less complete, so that we must distinguish between bonds essentially single and essentially double (or triple) in character. The stereochemistry of partly benzenoid and non-benzenoid conjugated systems therefore consists of two separate, though inter-related parts, that of the single and that of the multiple bonds. Much progress has recently been made with both these aspects, but this article will be concerned mainly with the first–the stereochemistry of the conventional single bonds.

Diphenyl. The spatial arrangement of groups about single bonds (conformation) is generally much more labile than about double bonds (configuration) and the restrictions to free rotation arise from quite different causes. In the case of double bonds, they arise mainly from attractional forces between the unsaturation electrons which normally provide energy barriers exceeding 20 kcal/mol and result in stable geometrical isomers. In the case of "pure" single bonds, on the other hand, the restrictions are due to repulsional forces between non-bonded atoms which normally amount to less than 10 kcal/mol, so that the different conformations are readily interconvertible at ordinary temperatures and cannot be studied by methods requiring their chemical isolation. In the hybrid bonds present in conjugated systems, both factors may come into play. This is the case, for example, in diphenyl (I); π electronic forces will tend to render the molecule uniplanar in order to permit maximum contributions from dipolar resonance structures such as (II) and maximum overlap of the π orbitals, whereas repulsion forces between the *o*-hydrogen atoms will tend to make the molecule non-planar.



(I)

(II)

The conformation of minimum potential energy will therefore have an interplanar angle Θ somewhere between 0° and 90°, but we cannot accurately predict its value because we have no precise data for either the maximum resonance energy or the maximum repulsion energy, and we know even less about the variation of these quantities with Θ. However, in this particular case, we might expect that the resonance energy (ca. 5 kcal/mol) will exceed the repulsion energy between the rather small hydrogen atoms, and therefore that Θ will be nearer 0° than 90°. The actual angle has been reported to be about 0° in the crystalline state[1] (where additional, intermolecular forces come into play), but 45° in the vapour phase[2]. Some doubts have been expressed about both these values, but it is reasonable to assume that diphenyl is near-planar ($\Theta < 20°$) in solution at ordinary temperatures.

The replacement of *o*-hydrogen atoms by larger groups will increase the repulsion forces and therefore Θ, but, as is well-known, two or more *o*-substituents are usually required, unless they are of exceptional size, to restrict rotation sufficiently for the existence of resolvable, optically active isomers of reasonable life-time in an asymmetric diphenyl[3]. Thus, the classical chemical method of optical resolution provides a test of the energy barrier to rotation, rather than of the extent of non-planarity in the stable conformations, and represents a relatively crude weapon in investigating the stereochemistry about single bonds. For further progress we must turn to physical methods, most of which yield information about molecular structure in its equilibrium state. Unfortunately, the most precise methods, such as X-ray and electron diffraction are, at present, largely restricted to the solid and gas phase, respectively, and are inapplicable to the study of molecules in solution–i.e. to conditions of particular interest to the chemist. An analytically less precise but experimentally simpler method, which is not subject to this limitation, is absorption spectroscopy. Electronic spectra, in particular, afford a very sensitive index of steric effects in conjugated systems, and make it possible to obtain at least semi-quantitative information concerning interplanar angles.

Ortho-Substituted Diphenyls. One reason why ultraviolet and visible spectral properties are especially sensitive to steric effects is that they are conditioned by differences between the ground state and electronically excited states, and that the steric requirements of the latter are often considerably more exacting than those of the ground state. This is true for example of the 2510Å-band (K-band) of diphenyl, which may be regarded as due to a transition from a ground state in which dipolar structures such as (II) make relatively small contributions, to an excited state in which such structures make relatively large contributions. The introductions of *o*-substituents, which cause severe

[1] Summary of a lecture delivered at the Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, on January 24, 1955.

[2] Department of Chemistry, Imperial College of Science and Technology, South Kensington, London, S.W. 7.

[1] J. Dhar, Proc. Nat. Inst. Sci. India *15*, 11 (1949).

[2] O. Bastiansen, Acta Chem. Scand. *3*, 408 (1949).

[3] See R. Adams and H. C. Yuan, Chem. Reviews *12*, 261 (1933).

hindrance and prevent uniplanarity, will obviously affect the excited state more than the ground state and will raise the energy level of the former with respect to the latter; i.e. the transition energy increases and the K-band is displaced to shorter wave-length. If the steric repulsion is sufficiently great and equals or exceeds the resonance stabilisation, the interplanar angle in the ground state will approach 90° and the two benzene rings will become electronically independent; i.e. the absorption of the system will revert to that of the two separate chromophores. Such phenomena were first observed with the *o*-methyldiphenyls[1]. The K-Band is shifted to 2350 Å in 2-methyldiphenyl, and to ca. 2150 Å in 2:2′-dimethyldiphenyl, and disappears completely in 2:2′:6:6′-tetramethyldiphenyl. From the spectral data, it is possible to construct an energy level diagram (Fig. 1). The resonance stabilisation in the ground state of diphenyl is known from thermo-chemical data to be *ca.* 5 kcal/mol relative to benzene, and the resonance energy (RE) of the excited state can be deduced to be 34 kcal/mol. Since even one *o*-methyl substituent will cause steric repulsion exceeding 10 kcal/mol, the RE's for ground states of the mono-, di- and tetra-methyl derivatives will be almost nil, while the RE's of the excited states will be reduced to *ca.* 21, 10, and 0 kcal/mol, respectively. Although the exact function which connects RE with the interplanar angle is not known, we can make a rough estimate of Θ by using the simplest function which passes through the fixed points $\Theta = 0$ (maximum RE) and $\Theta = 90°$ (minimum RE), namely

$$RE = k \cos^2 \Theta \qquad (1)$$

The values of Θ obtained in this way are *ca.* 40° for mono-, 60° for di-, and 90° for tetra-*o*-methyldiphenyl.

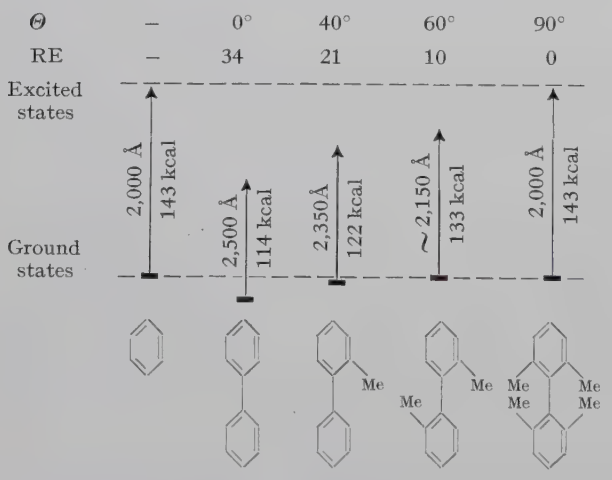


Fig. 1.–Electronic transitions between non-planar grounds states and non-planar excited states. (Energy level diagram for diphenyl and *ortho*-methyldiphenyls.)

Ortho-Bridged Diphenyls. A different kind of situation can arise if steric hindrance to uniplanarity is relatively small, either because the repulsion forces are weak or because they are compensated by bonding forces which tend to keep the system planar. A good example of the latter type is provided by *ortho*-bridged diphenyls such as 9:10-dihydrophenanthrene, dihydrodibenzoxepin and dihydrodibenzazepinium derivatives. The ultraviolet spectra of these compounds are quite different from those of *o*:*o*′-disubstituted diphenyls; the "diphenyl"-bands show the usual bathochromic, instead of hypsochromic, displacements and only the intensities are decreased as compared with diphenyl (table I). The absence of any unusual λ shifts (< 50 Å) means that the transition energy, and therefore the energy levels of the ground and excited states, are almost unchanged (< 3 kcal) by any steric effects, but the decrease in ε shows that the transition probability is reduced. According to classical theory, transition energy and probability are normally interdependent, and a change in ε without change in λ must therefore be due to a sterically conditioned change in selection rules: the transition has evidently become partly "forbidden". We can interpret this in the following way[1]. Let us call the mean interplanar angle Θ_1 in the ground state, and Θ_2 in the excited state. Since the amount of double bond character of the single bond joining the two conjugated groups, and the resonance energy are increased in the excited state (see above), Θ_2 will be rather smaller than Θ_1. Now it is a fundamental principle, formulated by Franck and Condon, that since the motion of electrons is very much faster than that of atomic nuclei, interatomic distances (and therefore, interplanar angles) cannot change during an electronic transition; in other words, transitions can only occur along vertical lines in the potential energy diagram (Fig. 2). Hence a molecule with $\Theta = \Theta_1$ cannot pass directly into the equilibrium conformation of the excited state with $\Theta = \Theta_2$. Transitions will, however, be possible between higher vibrational sub-levels for which Θ is intermediate between Θ_1 and Θ_2. Now, the spacings of the torsional vibrational states of a polyatomic molecule

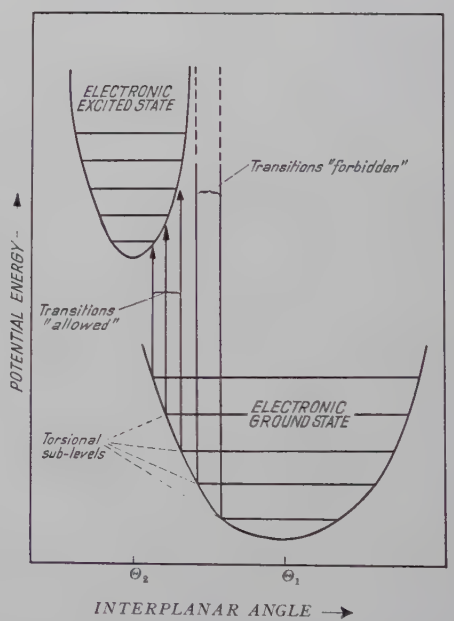
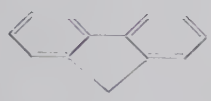
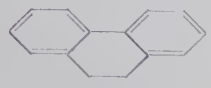
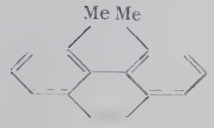
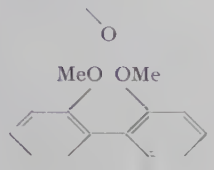
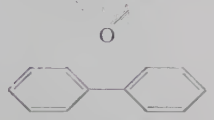
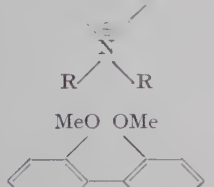
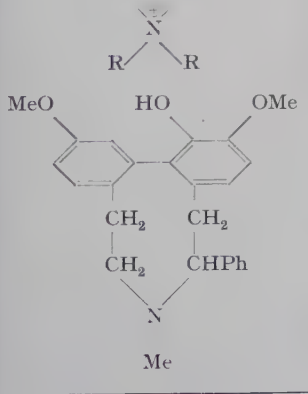


Fig.2.–Electronic transitions between non-planar ground states and near-planar excited states (potential energy curves).

[1] L. W. Pickett, G. F. Walter, and H. France, J. Amer. Chem. Soc. *58*, 2296 (1936). – See E. A. Braude and E. S. Waight in "Progress in Stereochemistry" (W. Klyne, Ed.), Vol. 1., Chapter 4 (Butterworths, London 1954), for a summary of data and literature references. – E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954), and forthcoming papers in J. Chem. Soc.

[1] E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954), and forthcoming papers in J. Chem. Soc.

Table I.–Ultraviolet Spectra (Diphenyl Bands) and Interplanar Angles of *ortho*-Bridged Diphenyls[1].

	$\lambda_{max.}$ Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
	2,600	19,000	1·00	0
	2,640	17,000	0·90	18
	2,600	12,600	0·66	35
	2,720	13,500	0·71	32
	2,500	16,500	0·87	21
	2,530	8,700	0·46	47
	2,480	15,000	0·79	27
	2,375	11,500	0·61	39
	–	–	<0·1	>70

[1] Unless otherwise stated, the data in this and the following tables are taken from E. A. Braude and E. S. Waight, "Progress in Stereochemistry" (W. Klyne, Ed.), Vol. 1., Chapter 4 (Butterworths, London, 1954), and E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954), and forthcoming papers in J. Chem. Soc.

are considerably closer than 3 kcal and the higher (i.e. non-equilibrium) states will be appreciably populated at ordinary temperatures, so that a fraction (r) of the molecules will have interplanar angles smaller than Θ_1 and sufficiently close to Θ_2 to be able to reach the excited state. As a first approximation, r will be given by $\varepsilon/\varepsilon_0$, where ε_0 is the value for the unsubstituted, planar parent compound and the simplest function connecting this with Θ_1 and Θ_2 is

$$r = \varepsilon/\varepsilon_0 = \cos^2(\Theta_1 - \Theta_2) \qquad (2)$$

If we make the additional assumption (which will be justified later) that Θ_2 is almost zero, i.e. that the excited state is near-planar, this simplifies to[1]

$$\varepsilon/\varepsilon_0 = \cos^2\Theta_1. \qquad (3)$$

The values for *ortho*-bridged diphenyls obtained in this way (using fluorene as reference compound) are given in table I. In the case of 9:10-dihydrophenanthrene and dihydrodibenzoxepin, the non-planarity of the phenyl rings is not due to non-bonded atom repulsions, but to the fairly rigid two-or three-atom bridge, and the angles deduced spectroscopically are in good agreement with those indicated by molecular models (Fig. 3). For the *o*-substituted derivatives, no reliable values can be obtained from static models since these do not indicate non-bonded repulsion forces, but the spectral data show that the increases in Θ_1 are relatively small, as might be expected since the conformation will still be determined mainly by the *ortho*-bridge. By contrast, phenyldihydrothebaine which contains a five-atom *ortho*-bridge, shows little diphenyl-type absorption; this is not surprising since in this case both the bridge and the other *ortho*-substituent will favour a highly noncoplanar arrangement of the benzene rings. The long-wavelength bands which are also shown by *ortho*-bridge diphenyls can be ascribed to hyperconjugative interaction of the phenyl groups through the bridge and to the usual auxochromic effects of substituents such as methoxyl. It should be mentioned, however, that a different interpretation has been put forward by Turner and his colleagues[2], to whom we owe many of the spectral data just discussed.

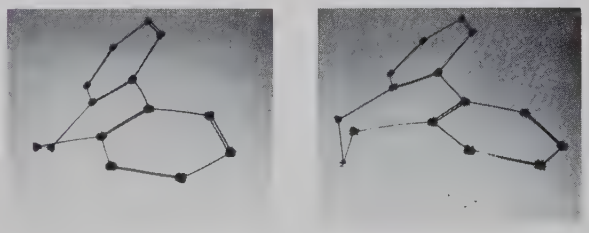


Fig. 3.–Molecular models of (*a*) 9:10-dihydrophenanthrene and (*b*) dibenzodihydroxepin.

We may thus distinguish between two different types of spectral steric effects[3]. The first, which results in

[1] E. A. Braude and E. S. Waight, "Progress in Stereochemistry" (W. Klyne, Ed.). Vol. 1., Chapter 4 (Butterworths, London 1954), and E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954) used a cos Θ function. The $\cos^2\Theta$ function is more satisfactory because it has the value 1 for $\Theta = 0$ and 180^0, as well as from other theoretical considerations.

[2] G. H. Beaven, D. M. Hall, M. S. Lesslie, and E. E. Turner, J. Chem. Soc. *1952*, 854. – G. H. Beaven, D. M. Hall, M. S. Lesslie, E. E. Turner, and G. R. Bird, J. Chem. Soc. *1954*, 131. – D. M Hall, S. Ridgwell, and E. E. Turner, J. Chem. Soc. *1954*, 2498.

[3] E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954), and forthcoming papers in J. Chem. Soc.

hypsochromic shifts, involves transitions between non-planar ground states and non-planar excited states. The second, which results in no unusual wavelengths shifts but only in decrease in ε of the K-band, involves partly forbidden transitions between non-planar ground states and near-planar excited states. Only the latter type of effect allows us, at present, to deduce quantitative information concerning the stereochemistry of the conjugated system. Although this type of effect has only been recognized quite recently, it is already clear that it occurs very widely and the remainder of the article will be devoted to a discussion of some other interesting examples.

Table II.–Steric Effects in *ortho*-Substituted Benzaldehydes and Acetophenones

	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
Benzaldehyde	2,420	14,000	1·00	0
4-Methyl-Benzaldehyde . . .	2,510	15,000	1·00	0
2-Methyl-Benzaldehyde . . .	2,510	13,000	0·87	21
2:6-Dimethyl-Benzaldehyde .	2,510	12,500	0·78	28
2:4:6-Trimethyl-Benzaldehyde	2,640	14,500	0·85	22
Acetophenone	2,420	13,000	1·00	0
4-Methyl-Acetophenone . . .	2,520	15,000	1·00	0
2-Methyl-Acetophenone . . .	2,420	8,500	0·58	40
2:4-Dimethyl-Acetophenone .	2,510	13,000	0·76	29
2:5-Dimethyl-Acetophenone .	2,450	10,000	0·59	39
2:6-Dimethyl-Acetophenone .	2,510	5,000	0·29	57
2:4:6-Trimethyl-Acetophenone	2,420	3,500	0·18	64

Aromatic ketones. A system which allows the comparison of interplanar angles deduced from electronic spectra with those given by another physical method are the *o*-alkylated benzaldehydes and acetophenones first studied by Rodebush[1]. The data in table II show that the K-bands, which are ascribed to a transition $Ph\text{-}C{=}O \rightarrow {}^{+}Ph = C\text{-}O^{-}$, show only normal bathochromic shifts with alkylation, but that *o*-methyl groups produce a small decrease in ε in the aldehydes and a large decrease in ε in the ketones. (In the aldehydes, the effect only becomes apparent when the fact that methyl substituents normally produce a small *increase* in ε is taken into account.)[1] The reductions in intensity evidently arise from the non-planarity of the equilibrium conformation in the ground state, due to interference between the *o*-methyl and the formyl or acetyl groups, and the values of Θ_1 calculated by equation (3) are 20–30° for the aldehydes and 30–60° for the ketones. This is in agreement with scale-diagrams (Fig. 4), which indicate that steric overlap in the uniplanar conformation is negligible for the formyl-hydrogen atom, slight for the formyl- or acetyl-oxygen atom, but considerable for the acetyl-methyl group. It is also in agreement with the dipole moment measurements of Sutton and his co-workers[2] which show that the mesomeric interaction between the phenyl and carbonyl groups is strongly reduced by *o*-methyl substituents. Now, dipole moments are a property of the electronic ground states alone and one can deduce Θ from the observed moment and the calculated moments for $\Theta_1 = 0$ and 90°, respectively. The values of Θ_1 obtained in this way are closely similar to, but slightly smaller than, those calculated from ε; the differences are almost certainly due to the fact that the "spectroscopic" angles really represent $(\Theta_1\text{–}\Theta_2)$ (equation 2) instead of Θ_1 (equation 3). By substracting

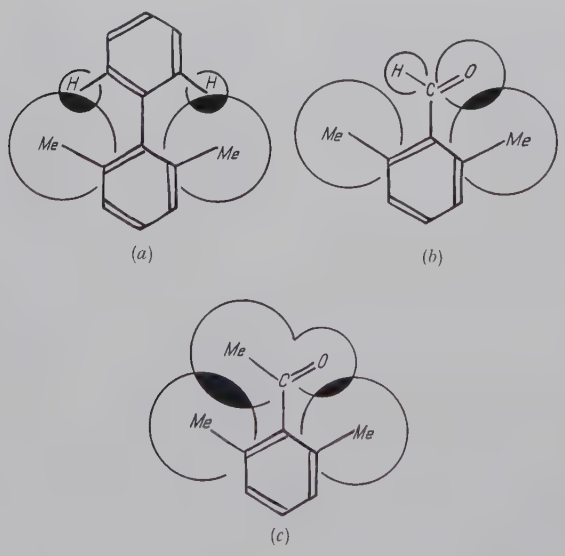


Fig. 4.–Planar projections of (*a*) 2:6-methyldiphenyl, (*b*) 2:6-dimethylbenzaldehyde, (*c*) 2:6-dimethylacetophenone.

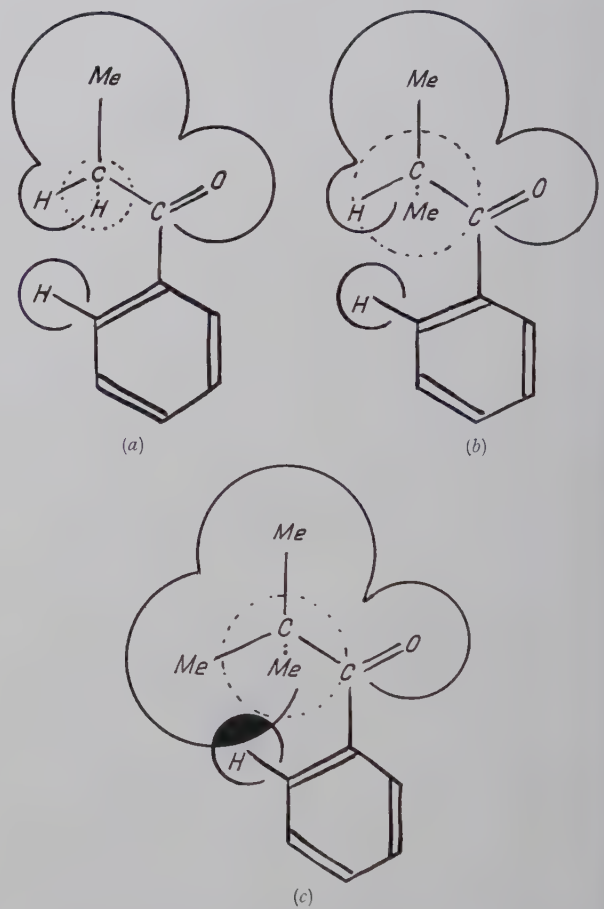


Fig. 5.–Planar projections of (*a*) phenyl ethyl ketone, (*b*) phenyl isopropyl ketone, (*c*) phenyl *tert.*-butyl ketone.

[1] M. T. O'Shaughnessy and W. H. Rodebush, J. Amer. Chem. Soc. *62*, 2906 (1940).

[1] E. A. Braude, F. Sondheimer, and W. F. Forbes, Nature *173*, 117 (1954), and forthcoming papers in J. Chem. Soc.

[2] J. B. Bentley, K. B. Everard, R. J. B. Marsden, and L. E. Sutton, J. Chem. Soc. *1949*, 2957.

the "dipole" angles from the "spectroscopic" angles, we thus get Θ_2; the values are quite small (10–15°) and therefore support our earlier conclusion that steric effects of this type involve near-planar excited states.

Table III.–Steric Effects in Phenyl Alkyl Ketones and Cyclic Aromatic Ketones

	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
PhCOMe	2420	13200	1·0	0
PhCOEt	2420	13500	1·0	0
$PhCOC_5H_{11}$[a]	2380	12000	0·89	19
$PhCOCMe_3$[b,c]	2420	9100	0·68	34
$PhCOCMe_2Et$[d]	2390	8300	0·62	38
$PhCOCMeEt_2$[d]	2380	7100	0·53	43
1-Indanone[b,c]	2430	12300	0·91	17
1-Tetralone[b,c]	2480	11600	0·86	22
Benz*cyclo*heptan-1-one[e] . .	2460	8100	0·60	39
Benz*cyclo*octan-1-one[e] . .	2470	6500	0·48	46

[a] E. A. Braude and W. F. Forbes, J. Chem. Soc. *1951*, 1755.
[b] P. Ramart-Lucas, J. Hoch, and Mme Vial, Bull. Soc. Chim. France *1952*, 220.
[c] G. D. Hedden and W. G. Brown, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 3744 (1953).
[d] D. J. Cram and J. D. Knight, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 5839 (1952).
[e] R. Huisgen and W. Rapp, Ber. dtsch. chem. Ges. *85*, 836 (1952).

It will be noted that although the apparent extent of steric overlap is almost the same in *o*-methyldiphenyl and *o*-methylacetophenone (Fig. 4), the spectral consequences are quite different in the two systems. Hindrance to uniplanarity is evidently much less severe in the acetophenones, because the acetyl group is much more flexible than a phenyl group, so that the repulsion forces are much smaller. Steric effects similar to those shown by the acetophenones are observed, even in the absence of *ortho*-substituents, in phenyl *tert.*-alkyl ketones and in bicyclic ketones, such as tetralone (Table III). Whereas a primary or secondary alkyl group can adopt conformations involving little overlap with the *o*-hydrogen atoms of the phenyl ring, considerable interference is unavoidable in the case of a tertiary alkyl group (Fig. 5), resulting in interplanar angles of *ca.* 30°. In bicyclic ketones, on the other hand, non-planarity is mainly due not to interference with the phenyl ring, but to repulsions between the hydrogen atoms of the methylene groups, i.e. to the preferred pseudo-chair conformation of the alicyclic ring (Fig. 6).

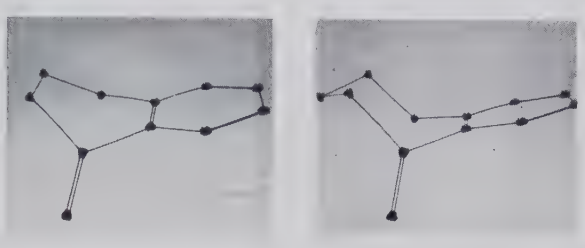


Fig. 6.–Molecular models of (*a*) α-tetralone, (*b*) benz*cyclo*heptan-1-one.

Styrenes. Since the valency angles at a double-bonded carbon atom tend to be the same (120°) whatever the other ligands, *ortho*-substituted styrenes might be expected to exhibit steric effects similar to those shown by acetophenones (Fig. 7). The data in table IV show that this is indeed the case. In β-substituted styrenes, the inter-planar angles show some dependence on the β-substituent; this is presumably because a conjugating group will affect the electronic forces which oppose non-planarity throughout the system, even though the group may not be directly involved in steric overlap.

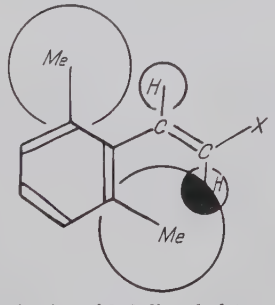


Fig. 7.–Planar projection of 2:6-dimethylstyrene derivative.

Table IV. – Steric Effects in *ortho*-Substituted Styrenes

X =		H	$CH=CH_2$	CHMe·OH	COMe	CMe = N·NHCONH$_2$
PhCH=CHX	$\lambda_{max.}$ Å . . .	2,440[a]	2,800[c]	2,510[c]	2,860	3,050
	ε	14,000	28,300	19,500	22,200	38,600
2-$MeC_6H_4CH=CHX$	$\lambda_{max.}$ Å . . .	2,450[a]	2,810[c]	2,550[c]	2,900	3,040
	ε	12,600	25,000	16,000	17,000	32,500
	$\varepsilon/\varepsilon_0$	0·78	0·83	0·74	0·71	0·84
	Θ_1^0	28	24	30	33	23
2:6-$Me_2C_6H_3$·CH=CHX . .	$\lambda_{max.}$ Å . . .				2,910	2,820
	ε	—	—	—	10,500	23,300
	$\varepsilon/\varepsilon_0$				0·40	0·60
	Θ_1^0				50	39
2:4:6-$Me_3C_6H_2CH=CHX$ . .	$\lambda_{max.}$ Å . . .	2,450[b]		2,510[d]	2,930[d]	
	ε	7,000	—	7,500	14,000	—
	$\varepsilon/\varepsilon_0$	0·35		0·29	0·50	
	Θ_1^0	54		57	44	

[a] P. Ramart-Lucas and J. Hoch, Bull. Soc. chim. France *1935*, 327.
[b] K. C. Bryant, G. T. Kennedy, and E. M. Tanner, J. Chem. Soc. *1949*, 2389.
[c] E. A. Braude, E. R. H. Jones, and E. S. Stern, J. Chem. Soc. *1947*, 1087.
[d] K. R. Bharucha and B. C. L. Weedon, J. Chem. Soc. *1953*, 1571.

In 9-vinylanthracene derivatives, steric hindrance is much more severe than in 2:6-dimethylstyrene derivatives and hardly any conjugation between the aryl nucleus and the side-chain is apparent[1]. The difference undoubtedly arises from the greater rigidity in the polycyclic aromatic system of the 1:8-hydrogen atoms which are firmly held in an in-plane position (Fig. 8).

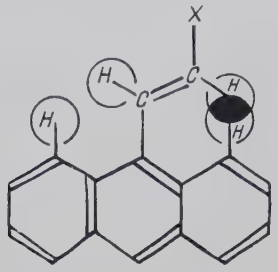


Fig. 8.–Planar projection of 9-vinylanthracene derivative.

Aromatic amines. All the examples discussed so far refer to classical or π–π conjugated systems. Strong interaction which may be termed π-p-conjugation, also occurs between multiple bonds and groups carrying unshared (p-) electron pairs. The steric requirements for maximum π-p-conjugation are that the π electron orbitals and p-electron orbitals should be parallel, i.e. that

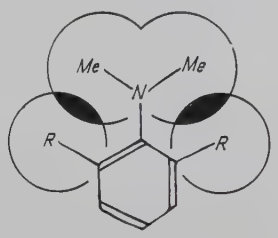


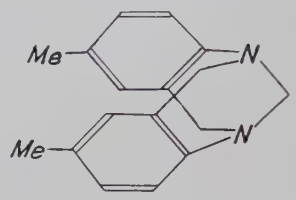
Fig. 9.–Planar projection of *ortho*-substituted *N*-dimethylaniline.

Table V.–Steric Effects in *ortho*-Substituted N-Dimethylanilines*

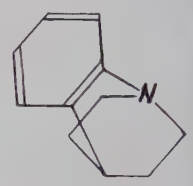
Substituent	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
None	2,500	14,000	1·00	0
2-Fluoro . . .	2,500	11,500	0·82	25
2-Chloro . . .	2,560	7,500	0·53	43
2-Bromo . . .	2,560	6,000	0·43	49
2-Methyl . . .	2,470	6,500	0·46	47
2-*tert.*-Butyl . .	–	< 1,000	< 0·1	>70
2:5-Dimethyl .	2,500	6,000	0·43	49
2:6-Dimethyl .	2,600	2,500	0·18	64

* Experimental data taken from W. R. Remington, J. Amer. Chem. Soc. *67*, 1838 (1945); B. M. Wepster, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *72*, 662 (1953).

in an aromatic amine $ArNR_2$ the two groups R should lie in a plane parallel to that of the ring. Just as in acetophenones and styrenes, *o*-substituents will cause interference in the electronically optimum conformation (Fig. 9), and result in rotation about the Ar-N bond. The intensities of the K-bands, which are ascribable to the transition $Ar–NR_2 \rightarrow {}^-Ar=NR^+{}_2$, therefore decrease[2]; the interplanar angles calculated from the spectral data are similar to those deduced for comparable π–π conjugated systems (table V). In the bicyclic compound, Tröger's base (III), the angle between the planes of the phenyl rings and of the $-NR_2$ groups is fairly rigidly fixed[1]; the value shown by models ($\sim 45°$) is in excellent agreement with that (43°) deduced from the ultraviolet spectra ($\lambda_{max.}$2500 Å, ε 8600). An extreme case of steric inhibition in an aromatic amine is presented by benzquinuclidine (IV); here the planes of the benzene ring and the $-NR_2$ groups are forced into almost perpendicular positions and no-K-band is observed[2].

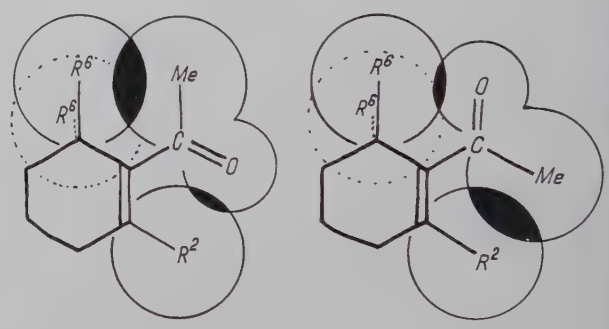


(III)



(IV)

cyclo*Hexene Derivatives.* The stereochemistry of non-benzenoid conjugated systems presents some additional problems. The K-bands and the geometries of the conjugated systems in *cyclo*hexene derivatives, such as 1-acetyl*cyclo*hexene and 1-vinyl*cyclo*hexene, resemble those of their benzenoid analogues, acetophenone and styrene, but unlike in the latter, the 2- and 6-positions are no longer equivalent and two different uniplanar conformations, *s-cis* and *s-trans*, are possible[3] (Fig. 10).



(*a*) (*b*)

Fig. 10.–Planar projections of (*a*) *s-cis* acetylcyclohexene and (*b*) *s-trans* acetyl*cyclo*hexene.

The planar *s-trans* conformation is electronically stabler by *ca.* 2–3 kcal than the *s-cis*, and in acetyl*cyclo*hexene a substituent will have a larger effect in the 2- than in the 6-position. This is borne out by the spectral data (table VI), but the decrease in ε in 1-acetyl-2-methyl-*cyclo*hexene could be due[4] either to a non-planar *s-trans* conformation or to a near-planar *s-cis* conformation, since ethylenic ketones with an enforced *cisoid* configuration show a similar decrease, which is ascribable to the reduced overall length of the chromophore and the smaller transition moment. Which conformation is favoured will obviously depend on the relative potentional energies. Since the absence of hypsochromic shifts

[1] E. A. Braude, J. S. Fawcett, and D. D. E. Newman, J. Chem. Soc. *1950*, 793.

[2] W. R. Remington, J. Amer. Chem. Soc. *67*, 1838 (1945). – H. B. Klevens and J. R. Platt, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 1714 (1949).

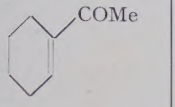
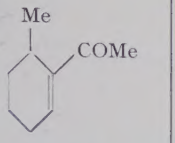
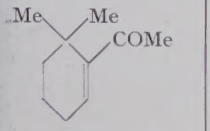
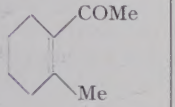
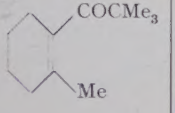
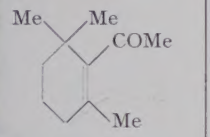
[1] V. Prelog and P. Wieland, Helv. Chim. Acta *27*, 1127 (1944).

[2] B. M. Wepster, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *72*, 662 (1953).

[3] E. A. Braude, E. R. H. Jones, H. P. Koch, R. W. Richardson, F. Sondheimer, and B. J. Toogood, J. Chem. Soc. *1949*, 1890.

[4] R. B. Turner and D. M. Voitle, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 1403 (1951).

Table VI.–Ultraviolet Spectra ("K-bands"), Infrared Spectra (C = O stretching frequencies) and Interplanar Angles of Substituted 1-Acetylcyclohexenes

	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0	ν, cm^{-1}	$\Delta\nu$, cm^{-1}
	2,320	12,500	1·0	0	1,665	42
	2,340	12,000[a]	0·96	11	–	–
	2,320	12,000	0·96	11	–	–
	2,450	6,500	0·52	44	1,678	29
	2,390	1,300[b]	0·10	71	1,684	17
	2,430	1,400	0·11	71	1,693	14

[a] E. A. Braude and O. H. Wheeler, J. Chem. Soc. *1955*, 329.
[b] Unpublished experiments by Dr. C. J. Timmons.

implies that steric hindrance amounts to not more than 1 kcal, i.e. less than the extra resonance stabilisation in the *s-trans* conformation, it seems probable in the present case that a non-planar *s-trans* conformation ($\Theta_1 = 45°$) will be preferred to a near-planar *s-cis*-conformation ($\Theta_1 \sim 180°$). This is borne out by the parallelism between the effects of *o*-methyl substituents in the alicyclic and benzenoid ketones, not only with regard to the ultraviolet but also to the infrared or Raman spectral properties. Thus, the carbonyl stretching frequencies show a progressive decrease with increasing hindrance and approach the value for unconjugated ketones; an

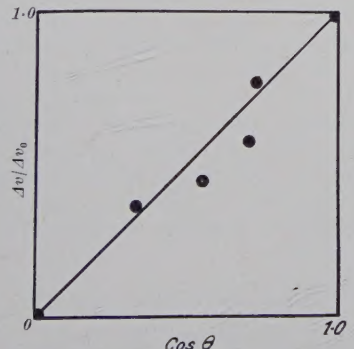
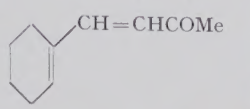
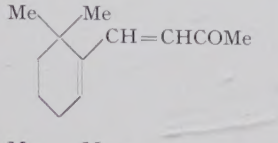
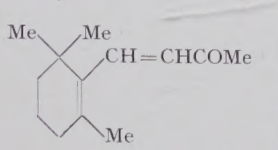
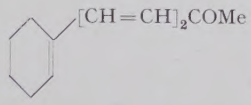
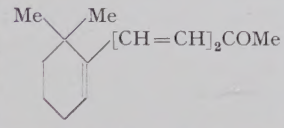


Fig. 11.–Plot of interplanar angle against relative carbonyl stretching frequency shifts for alicyclic and benzenoid ketones.

Table VII.–Steric Effects in 1-Vinylcyclohexene Derivatives

	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
	2,810	20,800	1·0	0
	2,810	13,000	0·65	36
	2,960	10,700	0·46	47
	3,200	37,500	1·0	0
	3,260	15,500	0·41	50

approximately linear relationship exists between Θ_1 and the ratio $\Delta\nu/\Delta\nu_0$ of the frequency shifts in the non-planar and planar compounds (Fig. 11). It will be noted that the consequence of non-planarity in vibrational spectra, unlike in electronic spectra, is a change in frequency (i.e. wavelength), indicating that the mechanical coupling which governs the former is a much more sensitive function of interplanar angle than electronic coupling, which governs the latter.

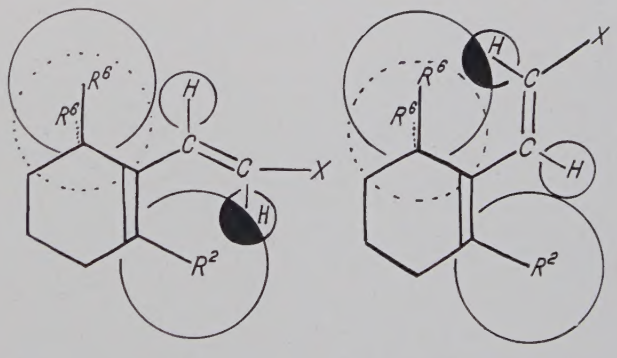


Fig. 12.–Planar projection of (*a*) *s-cis* vinyl*cyclo*hexene and (*b*) *s-trans*vinyl*cyclo*hexene derivatives.

In 1-vinyl*cyclo*hexenes, the relative effects of 2- and 6-substituents will be reversed, the latter being sterically more effective in the *s-trans* conformation (Fig. 12). This is well illustrated by data for the dienones of the β-ionone type[1] (table VII). The fact that the non-planar *s-trans* conformation is preferred in such systems, even though

[1] E. A. Braude, E. R. H. Jones, H. P. Koch, R. W. Richardson, F. Sondheimer, and J. B. Toogood, J. Chem. Soc. *1949*, 1890. – E. A. Braude and E. R. H. Jones, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 1041 (1950).

it may involve greater steric hindrance to planarity than the *s-cis*, is borne out by the X-ray diffraction work of MacGillavry and her collaborators on β-ionylidenecrotonic acid[1]. Another effect shown by the dienones is the emergence of a band due to a partial (enone) chromophore; as the interaction between the ring-double bond and the side-chain becomes sterically more and more inhibited, the probability of the independent transition of the enone group giving rise to a band near 2300 Å, progressively increases[2].

Table VIII.–Steric Effects in Substituted Butadienes

	$\lambda_{max.}$, Å	ε	$\varepsilon/\varepsilon_0$	Θ_1^0
$CH_2=CH-CH=CH_2$ . .	2,170	21,000	1·0	0
$MeCH=CH-CH=CH_2$.	2,230	23,000	1·0	0
$MeCH=CH-CH=CHMe$	2,270	24,000	1·0	0
$Me_2C=CH-CMe=CH_2$.	2,320	8,500	0·35	53
$Me_2C=CH-CCl=CH_2$ . .	2,330	8,100	0·34	55
$Me_2C=CH-CH=CMe_2$.	2,410	24,000	1·0	0
$Cl_2C=CCl-CCl=CCl_2$ . .	<2,100	—	<0·1	>70

Acyclic and Homocyclic dienes. The stereochemistry of the central bond in butadiene was first explicitly considered in 1939 by Mulliken[3], who deduced a planar *s-trans* conformation on theoretical grounds. This was later confirmed experimentally by Aston and coworkers[4] by thermodynamic measurements, and is also in agreement with electron diffraction[5] and Raman spectroscopic[6] studies. Similar conclusions have been reached

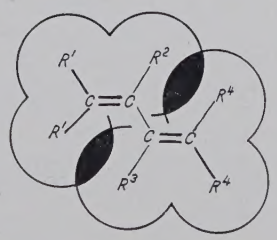


Fig. 13.–Planar projection of substituted butadienes.

for butadienes containing either one or two methyl or-chloro-substituents[7]; scale-diagrams indicate that, independently of the positions of two substituents (e.g. 1:1-, 1:2-, 2:3-, or 1:4-) the planar *s-trans* conformations of such dienes are unhindered, and the ultraviolet spectra are "normal" (table VIII). Uniplanarity is also unopposed by three or even four substituents in the terminal (1:4) positions, but not in 1:1:3-trisubstituted butadienes (Fig. 13); the latter exhibit marked by lower ε values from which can be calculated interplanar angles of *ca.* 50°. In penta- and hexa-substituted butadienes, hindrance is so large that the K-bands disappear altogether[7].

[1] C. H. MacGillavry, A. Kreuger, and E. L. Eichhorn, Proc. Acad. Sci. Amst. *B 54*, 449 (1951), and private communication from Professor MacGillavry.

[2] E. A. Braude *et al.*, loc. cit.

[3] R. S. Mulliken, J. Chem. Physics *7*, 121 (1939).

[4] J. G. Aston, G. Szasz, H. W. Wooley, and F. G. Brickwedde, J. Chem. Physics *14*, 67 (1946).

[5] V. Schomaker and L. Pauling, J. Amer. Chem. Soc. *61*, 1769 (1939).

[6] K. Bradacs and L. Kahovec, Z. physikal. Chem. *B 48*, 635 (1940).

[7] G. J. Szasz and N. Sheppard, Trans. Faraday Soc. *49*, 358 (1953).

Table IX.
Ultraviolet Spectra and Conformations of 1:3-Cycloalkadienes[1]

Ring size	$\lambda_{max.}$, Å	ε	Favoured Conformation[a]	Θ_1[a]	Θ_1[b]
C_5	2,385	3,400	Near-planar *cis-s-cis-cis*	~ 0°	–
C_6	2,560	8,000	Near-planar *cis-s-cis-cis*	~ 0°	–
C_7	2,480	7,400	Near-planar *cis-s-cis-cis*	~ 0°	–
C_8	2,280	5,600	Non-planar *cis-s-cis-cis*	~45°	41°
C_9	2,195	2,500	Non-planar *cis-s-cis-trans*	~60°	60°
C_{10}	2,230	5,000	Non-planar *cis-s-trans-trans*	~60°	60°
C_{11}	2,250	6,200	Non-planar *cis-s-trans-trans*	~60°	56°

[a] Deduced from models. [b] Calculated from ε.

In homocyclic dienes, the conformation of the conjugated system is closely dependent on the ring size[1]. In the small rings (C_5–C_7), the diene systems must all be approximately planar and *cis-s-cis-cis* oriented. The differences in spectral properties relative to acyclic dienes observed in these cases (table IX) appear to be primarily electronic in origin and to be associated with hyperconjugation involving the saturated carbon atoms, and with transannular conjugation of the double bonds.

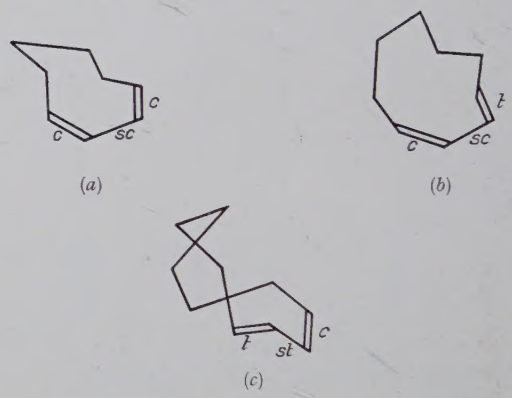


Fig. 14.–Conformations of (*a*) *cyclo*octa-1:3-diene, (*b*) *cyclo*nona-1:3-diene, and (*c*) *cyclo*deca-1:3-diene.

In the medium-size rings (C_8–C_{12}), models indicate that the diene system will be non-planar and that the conformations shown in Figure 14 will be favoured; the angles deduced from the spectral data are in excellent agreement. The small, but significant differences in $\lambda_{max.}$ indicate that although the excited states are near-planar, the steric effects are large enough to affect the energy levels by up to about 5 kcal/mol.

Zusammenfassung

Die Faktoren, welche die labile Stereochemie von konjugierten Systemen beeinflussen, werden diskutiert. Das Studium der Elektronenspektren solcher Systeme zeigt, dass in vielen Fällen Moleküle, welche in vorwiegend unebenen (nichtplanaren) Grundzuständen existieren, in vorwiegend ebene (planare) erregte Zustände übergehen. Die Gleichgewichtskonstellationen werden abgeleitet für Biphenylderivate, Arylketone, Styrole, Arylamine, Cyclohexenderivate und cyclische und acyclische Diene.

[1] E. A. Braude, Chem. and Industry *1954*, 1557. – In a recent paper, A. T. Blomquist and A. Goldstein [J. Amer. Chem. Soc. *77*, 998 (1955)] have described the *cis-cis*-isomer of *cyclo*deca-1:3-diene which shows *no* band in the 2150–2300 Å region, indicating that the diene system in this isomer is highly non-planar.

Die Forschungslaboratorien der Sandoz A.G. haben einen entscheidenden Anteil an der Reindarstellung und Konstitutionsaufklärung der herzwirksamen Glykoside und leisteten wesentliche Beiträge zu deren pharmakologischen Erforschung.

Aus diesen grundlegenden Arbeiten resultierten für die Therapie der Herzkrankheiten folgende Spezialpräparate:

Acylanid
Cedilanid
Digilanid
Scillaren
Strophosid

SANDOZ

SANDOZ A.G.

Clichés
Schwitter AG
Basel - Zürich

Dieses Inserat wurde mit

PLASTICA B dem modernst hergestellten Duplikatcliché gedruckt

PLASTICA B ist hart, widerstandsfähig und hitzebeständig (wichtig bei Stereotypien)

PLASTICA B wird mittels der neusten Prägepresse und Planschabmaschine (Rückenbearbeitung) hergestellt

PLASTICA B eignet sich wegen seines minimen Gewichts vor allem auch für auswärtige Sendungen (Übersee)

PLASTICA B von Schwitter AG